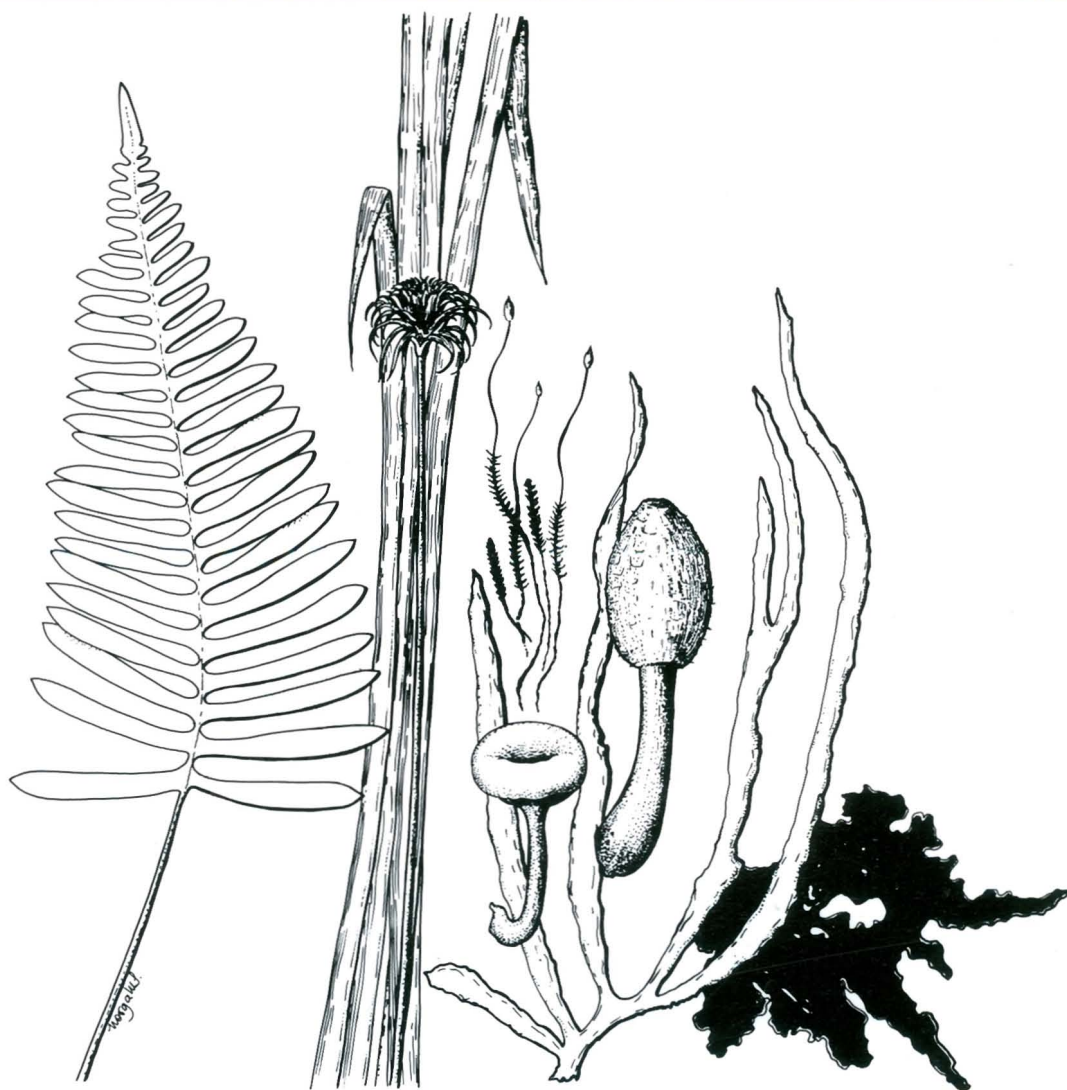
Série
Documentos

janeiro 89

Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico

Governo do Estado de São Paulo
Secretaria do Meio Ambiente

Instituto de Botânica

Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO DE BOTÂNICA

Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico

Coordenadores
Oswaldo Fidalgo
Vera Lúcia Ramos Bononi

São Paulo
1989

Publicado em 1984 na Série Manuais n.º 4, do Instituto de Botânica.
Reimpresso em 1989 na Série Documentos, da Secretaria do Meio Ambiente.

Todas as artes finais das ilustrações foram executadas por **Norga Maria Mascarenhas dos Santos** baseadas em dados fornecidos sob a forma de objetos, desenhos originais (**Maria Aparecida de Paula** e **Maria del Carmen Bosque Martinez**), impressos (**Joaquim F. de Toledo**) e croquis.

Editor gráfico: Silvana Vintecinco

CONTEÚDO

APRESENTAÇÃO 4

INSTRUÇÕES GERAIS 5
A. *Materiais gerais para coleta* 5
B. *Materiais gerais para herborização* 5
C. *Materiais para anotações* 6
D. *Dados a serem anotados* 6

1. ALGAS 7
1.1. *Introdução* 8
1.2. *Algas de águas continentais* 8
1.3. *Algas marinhas bentônicas* 11

2. FUNGOS E LÍQUENS 14
2.1. *Introdução* 15
2.2. *Fungos do ar* 16
2.3. *Fungos de águas continentais* 17
2.4. *Fungos de águas marinhas* 20
2.5. *Fungos microscópicos do solo e em substratos orgânicos* 22
2.6. *Fungos e líquens macroscópicos* 24

3. BRIÓFITAS 27
3.1. *Introdução* 28
3.2. *Técnicas* 28

4. PTERIDÓFITAS E FANERÓGAMAS 31
4.1. *Introdução* 32
4.2. *Pteridófitas* 33
4.3. *Fanerógamas herbáceas* 34
4.4. *Fanerógamas arbustivas* 36
4.5. *Fanerógamas arbóreas* 38
4.6. *Fanerógamas suculentas ou volumosas* 46
4.7. *Fanerógamas aquáticas* 48

5. ORGANIZAÇÃO DE HERBÁRIO 52

6. FÓRMULAS E MEIOS DE CULTURA 56

7. LITERATURA CITADA 61

8. BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA 62

APRESENTAÇÃO

Coleta, preservação e herborização de material botânico requerem metodologias específicas que, infelizmente, não se encontravam à disposição do nosso estudante de nível universitário.

Procurando preencher essa lacuna, idealizou-se o presente manual, com o objetivo de oferecer as informações básicas indispensáveis.

Não se pretende aqui descer a minúcias, particularizando técnicas muito especializadas e adotadas apenas para pequenos conjuntos de seres. Almeja-se, tão somente, divulgar aquelas de aplicação mais ampla.

Na tentativa de apresentar a matéria de forma didática, levou-se em consideração para o melhor arranjo da matéria, não só, os grandes grupos de plantas, mas também, aspectos estruturais peculiares ou condições ambientais em que vivem, que impliquem no emprego de técnicas específicas.

Complementando, considerou-se como fundamental a inclusão de um capítulo de ***fórmulas e meios de cultura,*** bem como, outro sobre ***normas gerais de organização de herbário.***

Para a melhor utilização do presente manual, considerou-se recomendável destacar algumas instruções de ordem geral. Tanto neste capítulo, como nos demais, os materiais requeridos para coleta, preservação e herborização são apresentados no singular e em termos genéricos, a título de lembrete. Assim, a seleção dos materiais, bem como, a definição de quantidades, tamanhos e modelos, serão estabelecidos pelo pesquisador, em adequação aos métodos descritos e à particular natureza do trabalho a ser realizado ou do material a ser coletado.

Os procedimentos ou materiais aqui relacionados têm aplicação, no seu todo ou em parte, nas diferentes atividades previstas para cada agrupamento vegetal. Em contraposição, nos demais capítulos ou subcapítulos direcionados a determinados grupos vegetais, só serão listadas informações específicas a eles pertinentes e não incluídas no presente capítulo.

A
Materiais gerais para coleta

altímetro
barbante, corda (fina, média ou grossa) ou cordel
binóculo
bornal, cesta, mochila ou sacola
canivete ou espátula
faca afiada ou facão com bainha
fita crepe
fita métrica
fósforo ou isqueiro
jornal
lupa de mão (aumentos de 10-15x)
máquina fotográfica e filme
papel indicador de pH (principalmente na coleta de plantas aquáticas "sensu lato")
papelão reforçado ou tábua fina compensada
pasta de plantas ou prensa de madeira
saco de papel (vários tamanhos — principalmente para 500 e 1000g)
saco de plástico (vários tamanhos — especialmente de 25 x 12cm ou 90 x 60cm)

Esse conjunto de materiais é usualmente carregado pelo coletor durante a atividade de coleta. Em seu todo, é recomendável para coleta de pteridófitas ou de plantas fanerogâmicas, enquanto aos demais grupos, pode atender em parte. Em termos de quantidades, os materiais devem ser selecionados pelo coletor que deverá levar em consideração o volume total do que será por ele transportado (Ex. materiais adicionais de coleta, alimentos, caixa de primeiros socorros, etc.), o peso desse conjunto, a distância a ser percorrida e sua própria resistência física. A pasta de plantas pode ser feita com dois pedaços de papelão reforçado (ou tábuas finas compensadas) de 45 x 30cm, ligados entre si por cordas, tendo entre eles as folhas de jornal. Recomenda-se que facão e faca afiados devem estar sempre dentro de suas bainhas quando não em uso, para evitar perdas e acidentes.

B
Materiais gerais para herborização

álcool
barbante, cordel, corda fina ou média ou correia com fivela
envelope resistente
estufa metálica ou de madeira para secagem
etiqueta
fogareiro
folha de alumínio corrugado
fósforo ou isqueiro
jornal
papel chupão ou mata-borrão
papel sulfite (40 kg)
papelão ondulado ou canelado

prensa de madeira ou pasta de plantas
querosene

Essa relação destina-se ao trabalho geral de herborização para uso no acampamento ou na sede. Corresponde à atividade que antecede o processo de incorporação do material no herbário. Todo esse conjunto o coletor deverá levar em excursões prolongadas ou a locais distantes e mantê-lo no acampamento. Nesse caso o fator limitante fica restrito às condições de transporte.

C
Materiais para anotações

apontador de lápis
borracha
caderneta ou caderno para anotações de campo
etiqueta de papel, gomada ou não
lápis preto ou caneta
papel sulfite (40 kg)

D
Dados a serem anotados

O CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO tem requerido, para cada material coletado, o preenchimento da ficha adiante apresentada. Esse modelo deve ser seguido para efeito de uma padronização nacional. Dados adicionais relativos à consistência, textura, odor e outros, devem constar das observações. Sempre que possível, as cores mencionadas devem ser referidas a uma carta de cores, de preferência de MAERZ & PAUL (1930) para fungos, ou HORTICULTURAL COLOUR CHART (1938), para os demais grupos de plantas.

Essas anotações deverão, posteriormente, ser transcritas para o rótulo e fichas de herbário.

GRUPO:	FAMÍLIA:		
NOME CIENTÍFICO:			
NOME VULGAR, LOCAIS, COM IDIOMAS:			
NOME DO COLETOR (OU COLETORES):	Nº DO COLETOR	DATA DA COLETA:	
NOME DO DETERMINADOR:	DATA DA DETERMINAÇÃO:	MATERIAL DISPONÍVEL:	
HÁBITO DE CRESCIMENTO:	FILOTAXIA (SÓ DICOT.):	COR DA FLOR OU DO ESPORÓFORO:	
COR DO FRUTO OU DOS ESPOROS:	INTERESSE ECONÔMICO:	INTERESSADO:	
AMBIENTE GERAL:			
SUBSTRATO GERAL:			
COMPORTAMENTO:	FREQUÊNCIA RELATIVA:		
PAÍS:	REGIÃO:	ESTADO, TERRITÓRIO OU SIMILAR:	
MUNICÍPIO:	LATITUDE:	LONGITUDE:	ALTITUDE:
LOCAL DA COLETA:			
OBSERVAÇÕES:			

1

ALGAS

1.1. INTRODUÇÃO

Carlos Eduardo de Mattos Bicudo

1.2. ALGAS DE ÁGUAS CONTINENTAIS

Célia Leite Sant'Anna
Carlos Eduardo de Mattos Bicudo
Rosa Maria Teixeira Bicudo
Miriam Borges Xavier

1.3. ALGAS MARINHAS BENTÔNICAS

Marilza Cordeiro-Marino
Noemy Yamaguishi-Tomita
Silvia Maria Pita de Beauclair Guimarães

1
ALGAS

1.1
Introdução

Alga é hoje um nome popular e, como grupo de vegetais, extremamente heterogêneo. Reúne formas encontradas principalmente em ambiente aquático (marinho ou continental), mas também em solos; que podem viver no interior de outros vegetais ou de alguns animais; que podem ser de vida livre ou fixas sobre certos animais, vegetais, rochas e outros substratos; que normalmente são capazes de produzir seu próprio alimento (autótrofas) mas, que também incluem alguns organismos saprófitos ou parasitas (heterótrofas); que podem variar desde seres unicelulados até os multicelulados. Quanto às variações de forma do corpo e da cor que apresentam, as algas reúnem a maior gama jamais imaginada pelo homem. Tudo isso é conseqüência da primitividade morfológica e fisiológica das algas, cuja reunião, do ponto de vista sistemático, num único grupo, é forçada e decorrente simplesmente da inexistência de um envoltório, constituído por células estéreis, que recobrisse seus órgãos de reprodução, tanto sexuada como assexuada.

1.2
Algas de águas continentais

A coleta de algas de águas continentais requer, necessariamente, como para qualquer outro grupo de organismos, resposta a algumas questões preliminares, quais sejam: 1) onde existem algas normalmente? 2) que tipo de trabalho pretende-se realizar? e 3) que material e como se pretende coletar?

A resposta à primeira pergunta é dada conhecendo-se, previamente, os ambientes naturais onde vivem as algas e qual desses ambientes se pretende visitar para a coleta.

O meio mais rico em algas é, com certeza, o aquático, a saber: pântanos, empoçados, lagoas, lagos, represas e rios. Certas algas, porém, podem ser encontradas vivendo no ar, em locais constantemente umedecidos, tais como: troncos de árvores, paredes, pedras, solos, etc. Isto, sem mencionar os chamados ambientes "pouco usuais": plantas (algas endofíticas ou epifíticas), animais (algas entozoárias ou epizoárias), águas termais, neve, etc.

De um modo geral, é mais aconselhável, quando em excursão, fazer-se uma coleta completa, com grande número de amostras, de algumas poucas localidades, do que apanhar uma ou duas amostras de um grande número de áreas. Na realidade, nada é mais improdutivo do que não se dispor de quantidade suficiente de material de alguma alga mais rara encontrada, ou dispor de alguns exemplares apenas, imaturos, de uma dada espécie, que não possibilitem sua identificação.

Quanto à segunda questão, o trabalho pode ser simplesmente o levantamento das espécies de algas que ocorrem num determinado corpo d'água ou numa área circunscrita. Este é um trabalho qualitativo, isto é, um catálogo, que deve ser o mais completo possível, das espécies de algas da área estudada. Por outro lado, pode-se pretender efetuar, além do levantamento qualitativo de um local, estudos da variação quantitativa de sua composição ao longo das quatro estações do ano e do número de indivíduos por volume, de cada espécie considerada.

Quanto à última questão, pode-se afirmar que a coleta de algas de águas continentais é um processo relativamente fácil, desde que se tenha os materiais adequados que podem variar dos mais simples e de fabricação caseira a aparelhamento bastante refinado.

Considerando-se que as algas, em geral, são mais abundantes e diversificadas no meio aquático, são aqui mencionados apenas os métodos de coleta, preservação e herborização das algas deste ambiente.

1.2.1. Coleta

A — Materiais

espátula
frasco de vidro com tampa (vários tamanhos)
garrafa especial para coleta de água (Fig. 3)
luva de borracha ou de plástico
papel vegetal cortado em tamanho de 4 x 2cm para rótulo

rede de plâncton com malha de 20-45μm (Fig. 1)
tesoura
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

a. Qualitativo

O método mais simples de coletar algas planctônicas consiste em passar um frasco aberto em meio à massa visível de algas ou, mesmo, na água aparentemente sem elas, enchendo-o aproximadamente até à metade. Se, no primeiro caso, pode-se conseguir uma quantidade apreciável de algas para exame, no segundo, o número delas por volume pode ser muito pequeno, tornando difícil a localização dos espécimes para estudo. Assim é vantajoso conseguir amostras concentradas de material. Para tanto, pode-se empregar a rede de plâncton. Trata-se de uma rede com a forma de um cone truncado, feita de tecido de náilon ou de seda, de malha muito fina. Na porção de maior diâmetro, adapta-se um aro de metal com cabo e, na parte mais estreita, amarra-se um frasco (Fig. 1).

Ao se passar a rede, a água atravessará o tecido e as algas ficarão concentradas no frasco. Quando se julgar que foi coletado material suficiente, basta esvaziar o frasco num outro ou, simplesmente, substituí-lo na rede.

Quanto às algas bentônicas macroscópicas, por exemplo as caráceas, costuma-se arrancar as plantas com a própria rede de plâncton ou retirá-las com a mão usando-se neste caso luvas de borracha ou de plástico como proteção. O material coletado deverá ser colocado em saco plástico com um pouco de água do próprio ambiente.

As cianofíceas que crescem formando massas em substratos como rochas, solo, outras plantas, etc., são coletadas com uma espátula e colocadas em frasco de vidro com um pouco de água do ambiente ou diretamente em envelopes de papel. Neste último caso, os envelopes devem ficar abertos e expostos ao ar para secagem do material.

Para coleta de algas epífitas usa-se cortar com uma tesoura ou arrancar com a mão as partes imersas da planta hospedeira. Este material deverá ser colocado em frascos de vidro com água do ambiente. Posteriormente no laboratório, estudam-se as epífitas ao microscópio, através de cortes bem finos do hospedeiro.

Na coleta de algas de águas continentais, usa-se preencher também os frascos até a metade no máximo, pois, se completada sua capacidade total e mantidos fechados, as algas podem, mesmo em poucas horas, entrar em processo de deterioração e o material torna-se impróprio para a identificação sistemática. É sempre aconselhável destampar os frascos contendo material coletado, assim que se chegar ao laboratório, ou cada vez que se parar para pouso numa excursão de dois ou mais dias.

Como medida de segurança, é conveniente por o número correspondente ao material a lápis ou outra informação qualquer, breve, em papel vegetal e colocá-lo dentro do frasco contendo o material coletado, na eventualidade da etiqueta externa se perder.

b. Quantitativo

Existem diversos métodos para o estudo quantitativo de algas planctônicas. O mais simples e prático consiste na coleta de água de superfície em frascos com capacidade de 1-5 litros. Se o material for pouco concentrado, recomenda-se usar um volume maior de água, caso contrário usa-se um volume menor.

Se houver interesse em coletar em várias profundidades, faz-se necessário o uso de um barco, para se ir ao meio do lago, e uma garrafa especial para coleta de água tipo Van Dorn, Nansen, cilindro de Kemmerer (Fig. 3), Meyer, etc.

Posteriormente, no laboratório, deve-se proceder à homogeneização do plâncton coletado (agitação manual cuidadosa) e transferir uma subamostra para uma cubeta ou câmara de contagem (volume de 1-50ml) para análise em microscópio invertido (maiores detalhes, ver método de Uthermöl em VOLLENWEIDER, 1971).

1.2.2. Preservação

A — Materiais

formalina (= formol 40%) ou formol bruto (= 100%)

lugol acético (ver cap. 6)
papel de filtro
pipeta graduada (vários tamanhos)
proveta
solução de Transeau (ver cap. 6)

B — Métodos

Ainda que seja preferível estudar organismos vivos, a maioria dos trabalhos sobre algas é feita a partir de material preservado. É praticamente impossível manter uma coleção viva até que seja completamente examinada.

A fixação e a preservação da amostra devem ser feitas o mais breve possível e até 48 horas depois do momento da coleta, mormente em se tratando de amostras concentradas de material.

A solução ideal para as algas ainda não está bem determinada. O melhor seria uma solução de fácil obtenção e que alterasse o menos possível a aparência da alga. Em várias alternativas de chaves dicotômicas artificiais para identificação de algas, a opção entre uma ou outra alternativa, é a cor típica dos organismos. Infelizmente, a cor de certas algas pode variar com as diferentes soluções utilizadas e, em geral, a grande maioria das algas desbota com o tempo, ficando até totalmente esbranquiçadas.

O método mais simples para preservação de algas de águas continentais é usar formalina em solução aquosa (1:10).

Das inúmeras soluções tentadas, talvez a que melhor atenda às características para melhor conservação seja a adição da solução de Transeau (ver cap. 6) à água da própria amostra na proporção de 1:1.

O material em líquido se utilizado em concentração apropriada, preserva melhor a forma do espécime, mas, tem a desvantagem da evaporação lenta e, eventualmente, de determinar a perda irreparável do material coletado, pela secagem completa da amostra. Adicionando-se um pouco de glicerina pura à amostra é possível diminuir a intensidade de evaporação e, conseqüentemente, a dessecação do material.

Quanto à preservação de epífitas, colocam-se pedaços da planta hospedeira em um frasco contendo água destilada e solução de Transeau na proporção de 1:1.

Especificamente, para o estudo de fitoflagelados, aconselha-se fixar o material com lugol acético (ver cap. 6) que preserva melhor seus cílios e flagelos.

1.2.3. Herborização

A — Materiais

água de torneira
bandeja de plástico (Fig. 2)
chapa metálica lisa, usualmente, de alumínio (do tamanho da folha de papel sulfite usada ou ligeiramente maior) — Fig. 2
mica folheada bem uniforme (pedaços)
papel manteiga
pinça
pincel
tecido de algodão alvejado e lavado (pedaços)
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Muitas algas podem ser preservadas como espécimes secos de herbário. Em se tratando de algas microscópicas, pinga-se 1-3 gotas da amostra contendo material vivo e concentrado (ou mesmo morto, fixado e concentrado) sobre uma ficha de cartolina branca, deixando-se secar espontaneamente. A cartolina, com o borrão seco, poderá ser guardada em envelope, num fichário. Quando se desejar estudar esse material, basta raspar um pouco do borrão sobre uma lâmina de microscopia contendo uma gota de solução aquosa à 4% de hidróxido de potássio. O hidróxido limpa o material e facilita a penetração de soluções corantes que sejam necessárias a seu estudo. Muitas vezes, em vez de cartolina branca, é preferível usar folhas bem uniformes e delgadas de mica como substrato da preparação. A mica permite o exame direto do material ao microscópio, empregando-se o hidróxido de potássio, não havendo ne-

cessidade de danificar a exsicata a cada utilização, como acontece quando se raspa o borrão da cartolina. Procedimento semelhante é usado para cianofíceas.

O material macroscópico, principalmente de caráceas, deve ser distendido e seco em uma folha de papel resistente. Para isto, deve-se: 1) escolher o espécime da alga que se deseja distender; 2) colocar uma folha de papel sulfite sobre uma chapa de alumínio lisa e mergulhar ambas em um recipiente contendo água de torneira (Fig. 2); 3) deixar flutuar na água do recipiente o exemplar escolhido da alga e, em seguida, elevar cuidadosamente a chapa metálica com o papel até que a alga assente sobre este; 4) distender, arrumando, as várias porções do talo da alga, utilizando um pincel fino e macio, trabalhando sempre com o material sob a água, para obter uma preparação que assemelhe o mais possível à planta viva; 5) tomar o material distendido e fazer o seguinte conjunto:

folha de papelão ondulado
folha de papel mata-borrão ou chupão
folha de papel com a alga distendida
folha de papel manteiga ou tecido de algodão alvejado
folha de papel mata-borrão ou chupão
folha de papelão ondulado

Depois de feitos vários desses conjuntos, os mesmos são colocados entre duas prensas (tábuas de madeira) e amarrados firmemente com cordão resistente, para secar. O material pode ser colocado ao sol, tendo-se, porém, o cuidado de trocar diariamente as folhas mais úmidas de papel chupão ou de mata-borrão, até que se apresente bem seco. Também pode ser seco em estufa à temperatura de 40-50°C.

Os exemplares mais delicados de algas podem ser distendidos sobre folhas de mica, em vez de papel.

1.3
Algas marinhas bentônicas

As algas marinhas bentônicas ocorrem no litoral, desde a zona das marés até profundidades limitadas pela penetração da luz. A ocorrência dessas algas é sempre condicionada à existência de substrato sólido, de natureza variada, para sua fixação.

Na faixa litorânea, os costões rochosos propiciam uma diversificação de ambientes onde as algas ocorrem, incluindo locais sujeitos à arrebentação violenta, locais protegidos e empoçados em depressões de rochas. Nas baías calmas, além de crescerem nos costões rochosos, podem ser encontradas sobre conchas, pedras soltas, pedaços de madeira, etc. depositados no fundo. Os mangues constituem outro ambiente onde as algas são encontradas, sendo o substrato representado por troncos e raízes de árvores que vivem nesse local. Em cada um desses ambientes há uma diversificação muito grande quanto ao tipo, forma e tamanho das algas. Nesses locais as algas estão sujeitas ao periodismo das marés, sendo que, as condições de maré baixa, são as mais adequadas para sua coleta.

Por outro lado, algas também são encontradas submersas, em diferentes profundidades, crescendo fixas a substratos rochosos, recifes de corais e outros materiais sólidos. Sua coleta é feita por mergulho ou dragagem.

1.3.1. Coleta

A — Materiais

balde plástico
draga
equipamento de mergulho
espátula
frasco de vidro com tampa (vários tamanhos)
martelo (para algas incrustantes)
talhadeira (para algas incrustantes)
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

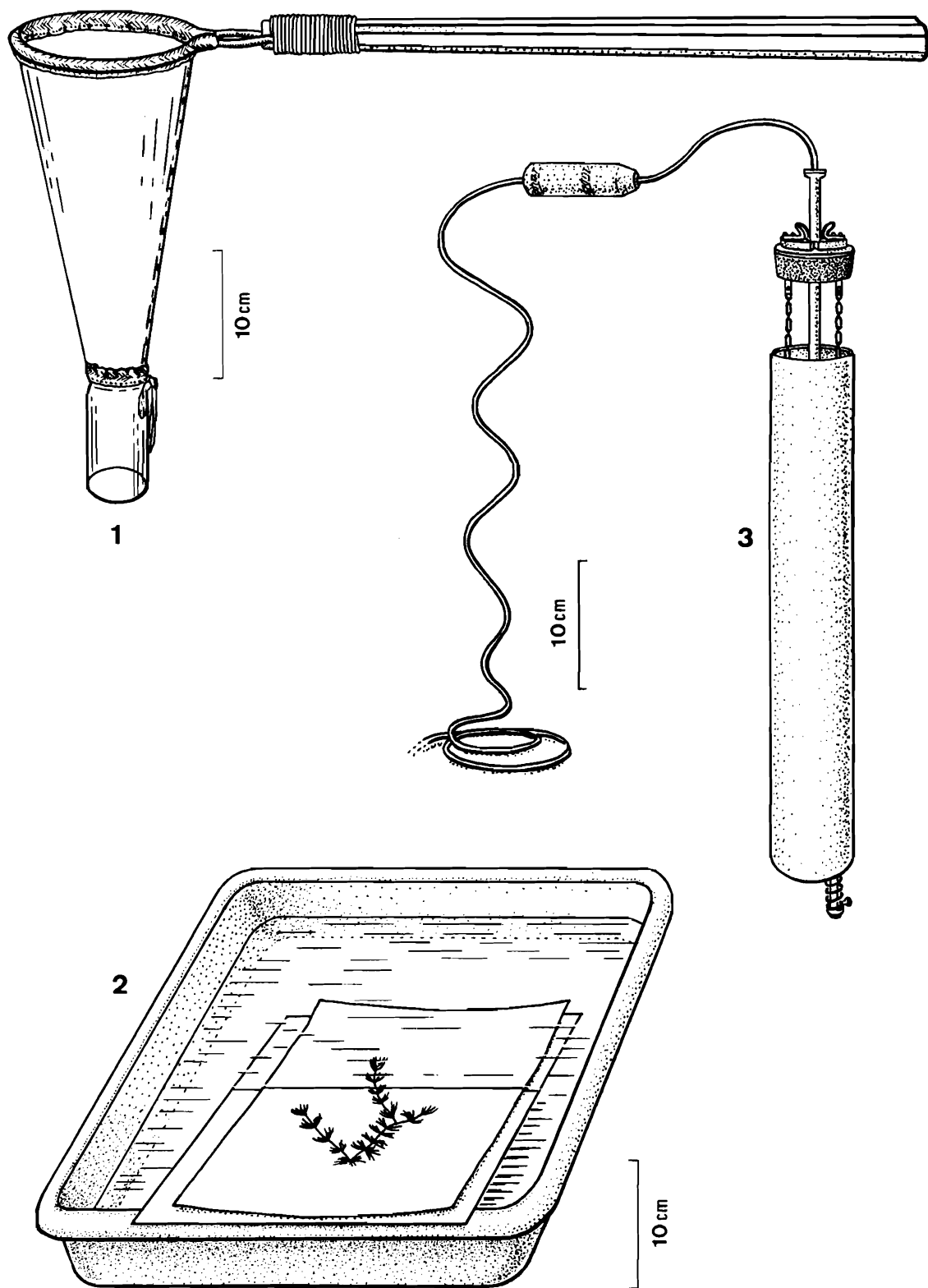



Figura 1. Rede de plancton de náilon ou seda. Figura 2. Bandeja de plástico + chapa lisa de alumínio + papel sulfite + material coletado. Figura 3. Garrafa especial para coleta de água: cilindro de Kemmerer.

B — Métodos

As algas que crescem na zona das marés, podem ser coletadas manualmente, com auxílio de espátula, tendo-se o cuidado de retirar as plantas inteiras. Estas são mantidas úmidas, acondicionadas em sacos plásticos, sendo as menores e as mais delicadas colocadas em frasco com tampa. Deve-se tomar o cuidado de não colocar muitas plantas juntas, evitando-se, assim, danos e facilitando sua posterior separação. Os frascos e sacos contendo o material coletado devem ficar protegidos do calor intenso e da luz solar.

A coleta de algas, que crescem em profundidades não muito grandes, é feita manualmente por mergulhadores com equipamentos adequado, munidos de sacos plásticos presos à cintura, com pequenos furos, para transporte do material. Em profundidades maiores, essa coleta requer o auxílio de barcos e dragas.

Para a coleta de algas incrustantes há necessidade do emprego de martelo e talhadeira.

1.3.2. Preservação

A — Materiais

água do mar ou de torneira
bandeja de plástico
bórax
etiqueta
formalina (= formol 40%)
frasco de vidro com tampa (vários tamanhos)
microscópio estereoscópico
papel chupão ou mata-borrão
pinça
pipeta graduada (vários tamanhos)
placa-de-petri
proveta (vários tamanhos)

B — Métodos

a. Separação

O material coletado pode ser fixado no próprio local de coleta ou pode ser trazido vivo para o laboratório. Neste, as algas devem ser colocadas, quando vivas, em bandejas ou em outro recipiente qualquer contendo água do mar. Cada planta é posta em placa-de-petri com água do mar e examinada cuidadosamente sob lupa, para separação das epífitas.

Quando as algas são fixadas no local de coleta, posteriormente, devem ser examinadas e separadas sob microscópio estereoscópico.

b. Fixação

Para fixação, neutralizar um litro de formalina com uma grama de bórax. A partir dessa solução, preparar formalina a 4% com água do mar ou mesmo de torneira. Os frascos devem ser preenchidos com esta solução. Antes de colocar as plantas nos frascos, deve-se retirar com papel chupão ou mata-borrão, seu excesso de água. O material deve ser deixado na solução de formalina a 4% por um tempo mínimo de 24 horas, sendo o frasco devidamente rotulado. Anotar nos rótulos o local e a data da coleta.

1.3.3. Herborização

A — Materiais

idênticos aos relacionados em 1.2.3. (A)

B — Métodos

metodologia idêntica à de 1.2.3. (B)

2

FUNGOS E LÍQUENS

2.1. INTRODUÇÃO
João Salvador Furtado

2.2. FUNGOS DO AR
Sandra Farto Botelho Trufem

2.3. FUNGOS DE ÁGUAS CONTINENTAIS
Adauto Ivo Milanez

2.4. FUNGOS DE ÁGUAS MARINHAS
Rosely Gomes da Silva

2.5. FUNGOS MICROSCÓPICOS DO SOLO E EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS
Rosely Ana Píccolo Grandi

2.6. FUNGOS E LÍQUENS MACROSCÓPICOS
Oswaldo Fidalgo
Vera Lúcia Ramos Bononi

2

FUNGOS E LÍQUENS

2.1
Introdução

A classificação dos grandes grupos de fungos tem sido baseada no tipo e complexidade da morfologia, nas características das estruturas de reprodução e no padrão de comportamento exibido nos processos sexuais.

Inúmeros botânicos e, seguramente, poucos micologistas podem, ainda hoje, admitir os fungos como plantas. Por revelarem estruturas específicas, exibirem comportamento diferenciado e serem incapazes de realizar a fotossíntese, os fungos tornam-se organismos distintos dos demais seres vivos.

A situação dos líquens é mais complexa, uma vez que constituem produto da associação simbiôntica entre fungo e alga. Além de revelarem característica metabólica e, de certa forma, estrutura própria, os integrantes liquênicos mantêm sua individualidade biológica.

Complexo fungo-substrato

Como organismo heterotrófico, todo fungo depende, direta ou indiretamente, de outro ser vivo, para sua alimentação. A condição sapróbia é bastante evidente quando o fungo é encontrado sobre troncos, ramos, folhas, restos ou partes de vegetais ou animais mortos. O predatismo leva ao abate sumário do hospedeiro, enquanto o parasitismo é o tipo de associação em que o fungo provoca série gradativa de danos ao hospedeiro que, eventualmente, podem provocar sua morte. Entre os fungos, o parasitismo pode ser facultativo ou obrigatório.

Nos casos de fungos sapróbios e parasitas, a atenção ao complexo fungo-substrato é de grande valia nas iniciativas de coleta. É oportuno chamar a atenção para a ocorrência de fungos com desenvolvimento intramatrical, cujo ciclo se passa inteiramente no interior do hospedeiro e o extramatrical, que se desenrola em seu exterior.

E como se tudo isso não bastasse, há determinadas estruturas, como esporos e suas variações morfológicas e funcionais, que efetivamente não exibem qualquer manifestação de relacionamento físico e biológico a substrato orgânico, até o momento em que iniciam o processo de germinação.

Coleta e manutenção de fungos

Nunca será demasiado alertar o coletor para o fato de que as estruturas mais visíveis de um fungo não representam, necessariamente, todas as suas partes, nem tudo o que constitui o ciclo do organismo coletado. Grande parte do seu ciclo ou dos remanescentes estruturais poderá estar sendo perdida no interior do substrato ou, simplesmente, já ocorreu em outro lapso de tempo, em outro hospedeiro, ou em partes distintas do mesmo substrato.

Resultado: o que se coleta de um fungo constitui, em geral, um momento, no ciclo biológico da espécie.

As condições ideais para o estudo e compreensão dos fungos reside no isolamento de organismos, a partir de diferentes substratos e nos diversos ambientes em que os fungos ocorrem: ar, água e solo.

As partes mais evidentes, nos fungos, constituem, como regra geral, o que mais resiste ao manuseio e ao tratamento que leva à constituição da amostra do material (a exsicata) a ser incorporado ao herbário. Os espécimes podem ser preservados pela simples secagem; em meios líquidos, o picles; em lâminas, para exame ao microscópio, sob forma desidratada e liofilizada; em nitrogênio líquido, e por outros processos.

Isolamento e cultivo de fungos

A obtenção de culturas de fungos, a partir dos substratos onde ocorrem, requer o domínio de técnicas e o emprego de cuidados especiais. Os procedimentos, as fórmulas, as receitas e as práticas são variadíssimos, dependendo do tipo de fungo, da natureza do substrato e do ambiente no qual se trabalha. É imprescindível levar em consideração a assepsia e selecionar o meio mais indicado para isolamento.

O ar é um repositório natural, sob a forma de esporos, dos mais diversos tipos e grupos de fungos. O isolamento de esporos dependerá do local, do tempo de exposição e do substrato empregado. Descrever-se-ão apenas métodos qualitativos e não quantitativos para o isolamento de fungos do ar.

2.2.1. Coleta

A — Materiais

graxa de silicone ou glicerina
lâmina e lamínula para microscopia (Fig. 10)
meio de cultura BDA ou outros (ver cap. 6)
placa-de-petri
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Exposição ao ar, no ambiente selecionado, da lâmina com leve camada de graxa de silicone ou glicerina, ou ainda da placa-de-petri com meio de cultura, onde os esporos existentes no ar, por ação da força da gravidade, irão depositar-se e aderir-se às superfícies expostas. O tempo de exposição pode variar de 30 segundos a 15 minutos a critério do interessado, em função das condições ambientais (DAVIES, 1971).

2.2.2. Preservação

A — Materiais

agulha de repicagem (Fig. 4)
lâmina e lamínula para microscopia (Fig. 10)
placa-de-petri
tampão de gaze e algodão para tubo de ensaio (Fig. 7)
tubo de ensaio (Fig. 7)
meio de cultura: BDA ou outros (ver cap. 6)

B — Métodos

Os esporos do ar, depositando-se na lâmina com silicone ou glicerina, ficarão a ela aderidos. A observação direta da lâmina ao microscópio óptico comum poderá, em muitos casos, permitir a identificação do fungo. Estudos mais acurados requerem a técnica de exposição de placa-de-petri com meio de cultura. O esporo, em contato com o meio de cultura adequado germinará, dando origem a uma colônia. No momento oportuno, as diversas colônias da placa-de-petri exposta, deverão ser individualmente repicadas, por meio de agulhas apropriadas (Fig. 4-5), em outras placas também com meio de cultura, para o crescimento de culturas axênicas, que são as indicadas para estudos mais minuciosos. A preservação dessas colônias é feita através de repicagens periódicas das colônias em novos meios, acondicionados em tubos de ensaio inclinados (Fig. 7), tamponados com algodão e gaze. A periodicidade das repicagens é em função do tipo de fungo, do meio de cultura e das condições ambientais em que são mantidos, mas de modo geral variam de 1-4 meses. Um dos meios de cultura mais utilizados é o BDA (ver cap. 6). A manutenção de culturas em geladeiras, a temperaturas de 4-10°C, acarreta baixa no metabolismo do fungo e menor dessecação do próprio meio, possibilitando maior intervalo entre as repicagens (6 meses).

Métodos mais sofisticados de preservação de fungos (micélio ou esporos) podem ser a liofilização, imersão da cultura em óleo mineral, utilização de nitrogênio líquido e outros (ONIONS, 1971).

2.2.3. Herborização

A — Materiais

estufa
formol

glicerina
lactofenol com azul de algodão (ver cap. 6)
lâmina e lamínula para microscopia (Fig. 10)
luto ou esmalte incolor para unhas
papel de filtro
placa-de-petri de vidro ou de plástico (polietileno ou policarbonato)
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Se apenas os esporos constituírem o material de interesse, lâminas semi-permanentes podem ser preparadas. O método mais simples consiste em colocar a estrutura do fungo sobre uma gota de lactofenol com azul de algodão disposta na lâmina. Espalhar bem. Colocar a lamínula de tal modo que não fiquem bolhas. Retirar o excesso com papel de filtro e vedar com esmalte incolor.

Há outros métodos mais minuciosos e de preparo mais demorado para confecção de lâminas permanentes. As lâminas assim preparadas e numeradas devem ser acondicionadas em laminários (Fig. 10).

Se houver necessidade da herborização da própria cultura, coloca-se em placa-de-petri, de preferência de material plástico, o meio de cultura adequado, em camada fina (± 5mm de espessura) e inocula-se, no centro da placa, o fungo de interesse. Após o tempo necessário para o desenvolvimento adequado da colônia, coloca-se em dessecador a placa-de-petri aberta, em contato com vapores de formol, que irão matar o fungo, mantendo, no entanto, o aspecto da colônia no que se refere à forma, tipo de crescimento, cor, altura, consistência, etc. Aguarda-se o tempo necessário para a completa secagem do meio de cultura, podendo-se, para acelerar o processo, utilizar estufa a uma temperatura de 30-35ºC. Sela-se a placa-de-petri com esmalte e rotula-se adequadamente o material.

2.3
Fungos de águas continentais

Os fungos encontrados em ambientes aquáticos podem ser divididos em dois grandes grupos:
zoospóricos (planospóricos) — Fig. 8
não zoospóricos (aplanospóricos)

Fungos zoospóricos são aqueles realmente adaptados ao ambiente aquático, pois possuem estruturas móveis de reprodução — zoosporos (Fig. 8) — dotados de um ou dois flagelos. O tipo, número e modo de inserção dos flagelos constituem importantes parâmetros para a delimitação de grupos taxonômicos.

Fungos não zoospóricos são aqueles cujos esporos não apresentam flagelos.

Os fungos aquáticos podem ser também encontrados no solo, através de estruturas de resistência, necessitando de água apenas para completar seu ciclo de vida. Para a observação desses fungos torna-se necessário coletar amostras de água e de solo, às quais adicionam-se iscas especiais. À amostra de solo junta-se ainda água requerida pelo fungo.

2.3.1. Coleta e Isolamento

A — Materiais

a. Para iscagem

ácido clorídrico a 1%
frasco de 100ml, de boca larga e com tampa de polietileno
hidróxido de potássio a 2%
hipoclorito de sódio (água sanitária) a 10%
isca: asa de inseto (siriri); celofane; ecdise de cobra; epiderme de cebola; exoesqueleto de camarão, lagosta ou siri; folha descorada ou fervida (gramíneas); fruto (maçã, pera, ameixa, tomate verde, caqui, carambola, etc.); grão de pólen (***Liquidambar*** sp, ***Pinus*** spp, ***Araucaria angustifolia,*** milho e outras gramíneas, etc.); graveto; inseto (inclusive larvas); semente (cânhamo, ***Crotalaria*** spp, laranja, melancia, etc.)
papel alumínio
papel encerado
saco de tela de náilon ou lata de alimento

b. Para isolamento

água destilada esterilizada
agulha com ponta em laço (Fig. 5)
agulha histológica
bico-de-Bunsen ou lamparina
bisturi ou lâmina de barbear (Fig. 6)
Karo (para observação de flagelos)
lâmina para microscopia (Fig. 10)
lamínula (Fig. 10)
meio: extrato de malte a 2%, MP-5 (ver cap. 6)
microscópio
pinça de ponta fina
pipeta de Pasteur esterilizada
placa-de-petri autoclavável (100x2,0 ou 100x1,5cm)
vidro autoclavável de boca larga (60-200ml)

B — Métodos

A iscagem pode ser feita no campo ou no laboratório (ver cap. 6).

A transparência dos substratos utilizados como isca, é fundamental, pois, o exame das estruturas dos fungos que crescem dentro deles, é indispensável para uma correta identificação.

Para estudos taxonômicos, as amostras de água, para iscagem no laboratório, devem ser coletadas em frascos esterilizados (vidro ou qualquer outro material) de boca larga com capacidade para 60-200ml. Quando da coleta, juntar à água gravetos, folhas, exúvia de insetos, algas, etc.

No laboratório, uma parte do conteúdo com os materiais coletados é transferida para placas-de-petri esterilizadas, às quais se adicionam as iscas já citadas.

As primeiras observações devem ser feitas nos substratos coletados e após 48-72 horas, nas iscas adicionadas. Para continuidade dos estudos é necessário o isolamento dos espécimes em cultura pura.

Os fungos que crescem nas sementes podem ser isolados utilizando-se o meio MP-5 (ver cap. 6). Com uma pinça ou agulha flambada (Fig. 4), porém fria, pedaço do micélio é removido e inoculado no meio de cultura. Depois de 48-72 horas desenvolve-se a colônia em torno do inóculo. Da parte mais periférica da colônia, um pequeno quadrado com 1cm de lado é retirado com auxílio de um bisturi ou lâmina de barbear (Fig. 6) flambados e colocado em uma placa-de-petri esterilizada, adicionando-se água destilada esterilizada e 2-3 metades de sementes de cânhamo. Após 48 horas, observações poderão ser feitas, montando-se, em água, parte do material entre lâmina e lamínula com auxílio de agulhas e pinças.

As próprias placas-de-petri poderão ser observadas diretamente ao microscópio, retirando-se a tampa.

Fungos que aparecem crescendo em outros substratos, como grãos de pólen, quitina e queratina, são de diversas naturezas e, devem ser isolados. Os substratos contendo os espécimes devem ser separados, lavados em água destilada e, em seguida, colocados em placas-de-petri esterilizadas, adicionando-se mais substrato da mesma natureza e água destilada esterilizada. Espera-se que haja invasão dos novos substratos e produção de grande número de zoosporos que poderão ser apanhados com uma pipeta de Pasteur ou uma agulha com ponta em laço (Fig. 5) e inoculadas em meio próprio para cultivo.

Para observação dos flagelos, coloca-se 1-2 gotas de Karo na montagem, que pela sua maior densidade diminui a mobilidade dos zoosporos facilitando a observação.

Alguns fungos, no entanto, não aparecem nas iscas colocadas nas amostras, em laboratório. Neste caso, as iscas, geralmente constituídas de frutos e gravetos, são colocadas em sacos feitos de tela de náilon, com malha fina, ou então, utilizam-se latas de alimentos, tais como, de leite, de chocolate em pó, etc., perfuradas com pregos em todas as suas faces. As latas ou sacos são amarrados a fios de plástico e imersos nos corpos de água, protegendo-os adequadamente da curiosidade popular. Depois de 2-3 semanas, as iscas são retiradas e lavadas em água corrente, por cerca de 30 minutos. Jatos fortes devem ser utilizados para a remoção de detritos, bactérias, protozoários e pequenos invertebrados. Se os fungos estiverem presentes, pequenas pústulas esbranquiçadas aparecerão, firmemente aderidas à epiderme do fruto. Cada pústula contém numerosos espécimes de fungos. Isolada uma pústula em lâmina, esta deve ser dissociada com agulhas histológicas, sob microscópio estereoscópico, a fim de separar os espécimes que, uma vez isolados, são colocados em água destilada, entre lâmina e lamínula para exame.

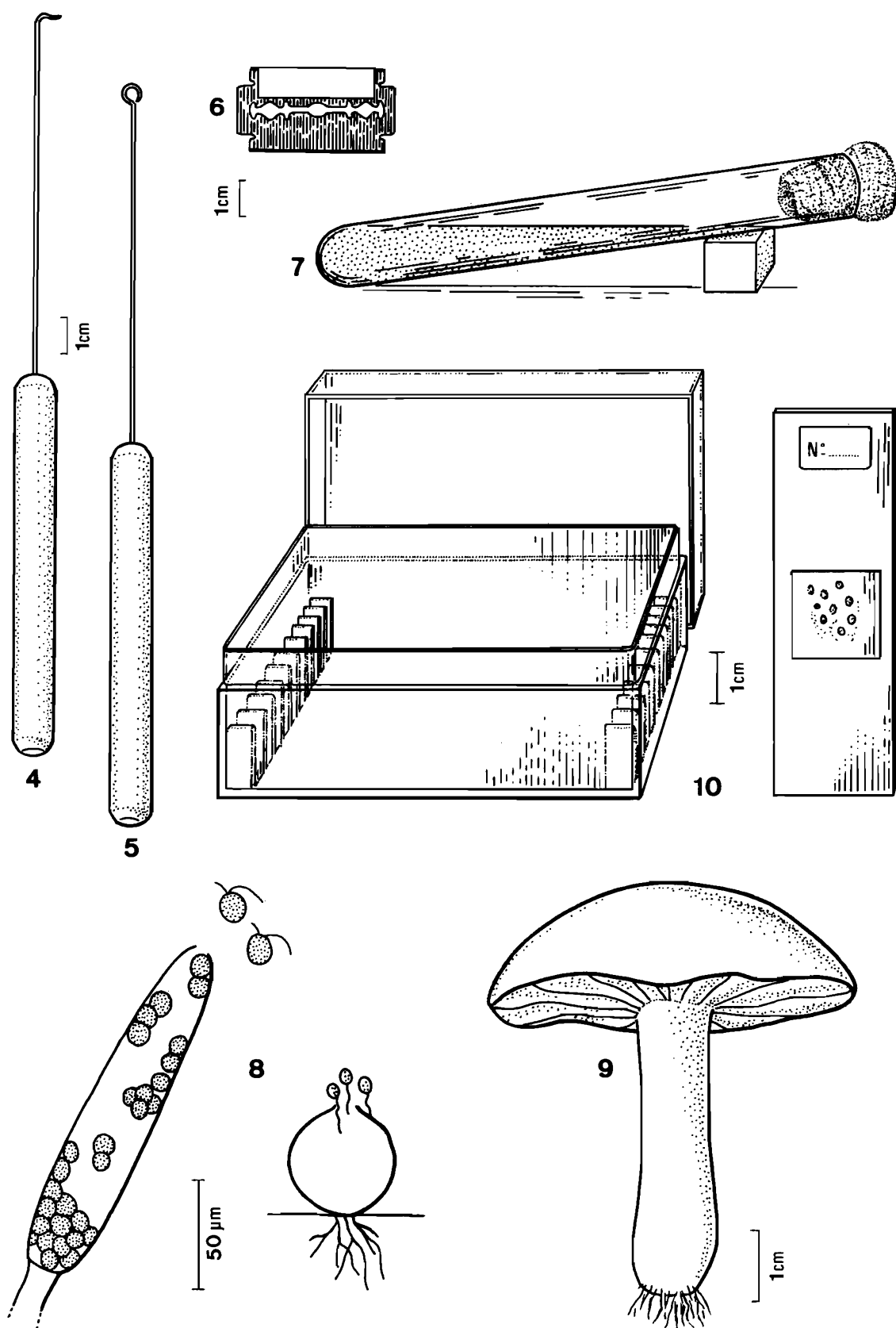



Figura 4. Agulha de repicagem. Figura 5. Agulha com ponta em laço. Figura 6. Lâmina de barbear. Figura 7. Tubo de ensaio com tampão de gaze e algodão e com meio de cultura solidificado inclinado. Figura 8. Fungos aquáticos zoospóricos com 1-2 flagelos. Figura 9. Corpo de frutificação de basidiomiceto estipitado (Agaricales).

2.3.2. Preservação

A — Materiais

água destilada esterilizada
agulha histológica
esmalte incolor
FAA (ver cap. 6)
frasco Pyrex de boca larga (60-200ml)
lactofenol com azul de algodão (ver cap. 6)
lâmina para microscopia
lamínula
meio: extrato de malte a 2%, fubá-de-milho (ver cap. 6)
pipeta de Pasteur esterilizada
semente de cânhamo

B — Métodos

A preservação do material pode ser em lâmina (ver item 2.1.3).

As colônias que crescem em sementes de cânhamo devem ser transferidas para um frasco Pyrex estéril, de boca larga, com metade a dois terços de sua capacidade preenchida de água destilada esterilizada. Adicionam-se 2-3 metades de sementes novas e incuba-se à temperatura ambiente. Em 4-7 dias, as culturas estarão maturas e poderão ser levadas à geladeira, a 4-10ºC. Neste momento os vidros são fechados com tampa de polietileno (sob pressão). A fim de permitir a circulação de oxigênio, pois que não há suspensão metabólica, fendas longitudinais deverão ser feitas na rolha ou dois furos na tampa de polietileno. Dessa maneira, os fungos permanecerão viáveis por períodos variáveis de 4-6 meses. Findo este, retiram-se os frascos da geladeira, troca-se a água destilada e adicionam-se novas sementes. É conveniente retirar algumas das sementes mais antigas, para evitar acúmulo de material.

Utiliza-se, também, a preservação em FAA, principalmente para as espécies patogênicas, porém, as estruturas fúngicas, por serem bastante delicadas, não se preservam bem.

A conservação do material vivo pode ser efetuada com utilização de meios de cultura (EMERSON, 1958), tais como: meio de fubá-de-milho e extrato de malte a 2% (ver cap. 6).

Para fungos zoospóricos e não zoospóricos deve-se apanhar os esporos com pipetas de Pasteur ou pedaços do fungo com agulha e inoculá-los em meio de cultura e proceder como no ítem 2.2.2.

2.4
Fungos de águas marinhas

2.4.1. Coleta e isolamento

A — Materiais

água do mar esterilizada
antibióticos: sulfato de estreptomicina, penicilina
estilete
garrafa escura com boca larga (± 8cm diâm. x 15cm compr.)
lâmina para microscopia
lamínula
meio de cultura (Tubaki, Czapek, BDA ou MHU) — ver cap. 6
papel de filtro
peneira (com malhas de 2 a 5mm)
pinça
placa-de-petri
toalha de papel

OBS. I. para isolamento de fungos que atacam raízes de plantas relacionadas com a orla marítima deve-se preparar 45 vidros com 20ml de água do mar esterilizada.
II. para obtenção de fungos que crescem na areia deve-se levar:

papel celofane

placa-de-petri
pólen de ***Pinus*** sp.
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Coletar pedaços de madeira em processo de decomposição, com dimensão em torno de 10-15cm de comprimento, obtidos de ambientes, como: parte alta, média e baixa da região intertidal, em área acima da maré alta, dunas e entre rochas.

Para o exame dos fungos existentes nesses substratos, efetua-se o isolamento por observação direta, sob lupa.

Em seqüência, procede-se ao exame microscópico, com o material entre lâmina e lamínula (Fig. 10). Para posterior identificação, pode-se inocular as estruturas encontradas em placas-de-petri com meio de cultura, Tubaki ou BDA (ver cap. 6), contendo água do mar e antibiótico, que fornecerá os nutrientes básicos para o desenvolvimento do fungo e impedirá o crescimento de bactérias.

Folhas caídas e em estado de decomposição também podem ser coletadas e estudadas aplicando-se este mesmo método.

Outra técnica consiste em recolher as amostras e distribuí-las em garrafas escuras com boca larga (em posição horizontal) acomodadas em toalha de papel dobrado e embebido em água do mar esterilizada. Este conjunto deverá permanecer de 1-6 semanas em local fresco e umedecido também com água do mar já esterilizada, para observação.

Para fungos que atacam raízes de plantas, cortam-se 20 pedaços destas, de 2-3mm de comprimento. Cada 2-3 pedaços devem ser colocados em frasco com 20ml de água do mar esterilizada. Agita-se violentamente por um minuto. Despreza-se essa água e acrescentam-se mais 20ml de água do mar repetindo-se o processo por mais 20 vezes. Os pedaços de raízes serão transferidos para placas-de-petri com papel de filtro esterilizados, permanecendo durante 24 horas para secagem à temperatura ambiente. Após este tempo, lotes de cinco pedaços serão transferidos para meio apropriado (BDA ou Czapek modificado — ver cap. 6).

Este método também é utilizado para fragmentos de folhas e madeira, com ligeira modificação na preparação das amostras. Pedaços de folhas e madeira em decomposição deverão ser triturados em liqüidificador, com água do mar esterilizada, por dois minutos. Após este tempo, o conteúdo deverá ser vertido sobre duas peneiras de diferentes dimensões de malha. A peneira maior deverá ser colocada sobre a menor para melhor retenção dos pedaços. Os fragmentos resultantes deverão ser transferidos para vidros, contendo 20ml de água do mar esterilizada e dar início às sucessivas lavagens conforme já descrito.

Quanto a fungos que crescem em areia, coletar amostras de solo da praia em sacos plásticos. De cada amostra, três colheres de chá deverão ser colocadas em placa-de-petri e completadas com água do mar esterilizada. Sobre este conjunto, colocar pedaços de celofane e grãos de pólen, como iscas. Após três dias poderão ser iniciadas as observações microscópicas. Esses exames poderão ser feitos de 3-30 dias após a iscagem das amostras. Os espécimes isolados poderão ser inoculados em meio de cultura MHU com antibiótico (ver cap. 6).

2.4.2. Preservação

A — Materiais

lactofenol com azul de algodão (ver cap. 6)
lâmina para microscopia
lamínula
tubo de ensaio com meio de cultura BDA ou outros meios de cultura (ver cap. 6)

B — Métodos

Para manter os organismos vivos, deve-se guardá-los em tubos de ensaio inclinados (Fig. 7), com BDA ou outro meio que atenda às necessidades básicas do fungo.

O material poderá ser preservado morto em lâminas semipermanentes (ver ítem 2.2.3).

O solo é um ambiente muito complexo. Está longe de ser um simples amontoado de matéria inorgânica sem vida, como costuma parecer. É na verdade habitado por bactérias, fungos, algas, protozoários, artrópodos (ácaros, insetos), anelídios, nematóides, moluscos e outros organismos que, na maioria das vezes, não se percebe por serem diminutos ou microscópicos. Todos estão em íntimo contato com minerais, raízes, matéria orgânica morta, etc. existentes no solo. Há, portanto, uma interação muito grande entre todos esses componentes do solo, fazendo com que ocorram transformações constantes, de natureza física, química e biológica. É importante, pois, considerar o solo como uma entidade dinâmica e viva.

Para isolar fungos microscópicos precisa-se usar técnicas ou substâncias especiais (ex: antibióticos) que impeçam o crescimento dos organismos indesejáveis.

2.5.1. Coleta e isolamento

A — Materiais

a. Coleta

álcool comum
algodão
espátula ou colher (vários tamanhos)
etiqueta
pinça
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

b. Isolamento

água destilada esterilizada
antibióticos: estreptomicina e rosa-de-bengala
bico-de-Bunsen ou lamparina
bisturi ou lâmina de barbear (Fig. 6)
cristalizador ou recipiente grande de vidro
estante para tubo de ensaio
estilete
lâmina para microscopia
lamínula
meio de cultura solidificado: BDA ou Czapek (ver cap. 6)
meio de cultura: Czapek, com antibióticos (ver cap. 6)
microscópio estereoscópico
papel alumínio ou pano de algodão limpo
papel de filtro ou outrò papel absorvente
pinça (vários tamanhos)
pipeta de 0,5-1,0ml esterilizada
placa de petri esterilizada
tubo de ensaio com 9ml de água destilada cada um, fechado com tampão de gaze e algodão hidrófobo esterilizado

B — Métodos

As amostras de solo, para análise, devem ser coletadas com uma espátula ou colher, tomando-se o cuidado de esterilizá-la parcialmente com algodão embebido em álcool, antes de cada coleta. Colocam-se cinco ou mais colheres de solo em sacos plásticos de 25 x 12cm.

As amostras devem ser guardadas em geladeira, se a utilização não for imediata, mas, exigem tratamento o mais rápido possível, devido à perda da viabilidade de hifas e esporos.

A coleta de substratos orgânicos como folhas, frutos, raízes, troncos, em diferentes estágios de decomposição ou não, insetos e outros pequenos animais é feita com a mão usando-se os saquinhos de plástico pelo avesso como luva ou com auxílio de uma pinça. Utilizam-se saquinhos plásticos individuais para cada tipo de substrato. As regras de assepsia parcial e colocação de etiquetas, tal como descrito para coleta de solo, são idênticas para toda e qualquer coleta.

Esterco de herbívoros é coletado ainda fresco, com espátula grande, e colocado em sacos plásticos maiores que os indicados para coleta de solo.

Para isolamento de fungos utilizam-se diversas técnicas.

O método de placa de solo consiste em colocar, com a espátula, pequena quantidade de solo (semelhante a uma cabecinha de fósforo) dentro de uma placa-de-petri esterilizada. Havendo torrões, colocar 0,5-1,0ml de água esterilizada dentro da placa e, com movimentos circulares, tentar desfazê-los, pondo-os em contato com a água. Verter o meio de cultura com antibióticos (Czapek + estreptomicina + rosa-de-bengala — ver cap. 6), ainda líquido (± 40ºC), sobre a placa com solo; fazer movimentos circulares para espalhar bem o solo no meio e deixar solidificar. Se o solo for muito arenoso e não houver torrões, não haverá necessidade de colocar água esterilizada. Deixar à temperatura ambiente e observar o aparecimento de colônias. Isolar os fungos em crescimento cortando com o estilete um pedacinho do meio com a colônia, transferindo-o para meio de cultura sem antibiótico (BDA ou Czapek — ver cap. 6) já solificado, em tubos de ensaio ou placas. Qualquer meio pode ser utilizado. Todos esses passos são efetuados bem próximos à chama, evitando-se deixar a placa aberta para não contaminar.

O método de diluição do solo consiste em esterilizar alguns tubos de ensaio com 9ml de água destilada cada um. Pesar 1,0g de solo da amostra e colocar em um dos tubos. Agitar bem. Este é o tubo da solução inicial, o qual deverá ser etiquetado e marcado 1:10. Com uma pipeta, retirar 1,0ml deste tubo, e colocar em outro, marcando 1:100. Do tubo 1:100 retirar 1,0ml e colocar no tubo seguinte, marcando 1:1000. E assim sucessivamente, usando uma pipeta esterilizada para cada transferência, marcando as diluições e agitando os tubos a cada nova diluição. Transferir 1,0ml de cada tubo de diluição para placas esterilizadas marcando-as com a diluição correspondente. Verter o meio de cultura (Czapek) com antibióticos (estreptomicina + rosa-de-bengala), ainda líquido, sobre as placas e agitar para espalhar a solução no meio. Deixar solidificar e observar o aparecimento de colônias. Isolar as colônias, seguindo as recomendações para placa de solo, não esquecendo de anotar a que diluição pertencem.

Para isolamento de fungos de substratos orgânicos usar o método de pressão de folhas que consiste em pressionar com a pinça uma folha sobre a superfície do meio de cultura com antibiótico, e retirá-la em seguida. Deixar à temperatura ambiente e observar diariamente o aparecimento de colônias. Isolar as colônias de aspectos diferentes, seguindo as recomendações para placa de solo. Pode-se pressionar, desta maneira, folhas em diferentes estágios de decomposição ou recém-caídas.

O plaqueamento de partes do substrato é feito colocando, numa placa-de-petri esterilizada, pequena subamostra da coleta. Com o bisturi, cortar o substrato em pedacinhos. Depositar 1-3 pedacinhos no centro de uma placa com meio de cultura com antibióticos. Verter pequena quantidade de água esterilizada sobre o substrato, fazer movimentos circulares para espalhar a água e deixar à temperatura ambiente. Isolar as colônias em crescimento seguindo as recomendações para placa de solo. Cuidar para que os instrumentos sejam esterilizados parcialmente com álcool, a cada mudança de substrato, mesmo pertencente à mesma amostra. Se a amostra for de insetos muito pequenos, colocá-los nas placas sem cortar.

Para isolamento de fungos do esterco de herbívoros, preparar o cristalizador, colocando dentro papel de filtro embebido em água. Introduzir o esterco e tampar. Se for outro tipo de recipiente, tampar com papel alumínio ou amarrar um pano limpo. Deixá-lo à temperatura ambiente e ao abrigo do sol, porém, com iluminação. Cuidar para que insetos e outros artrópodos não penetrem no recipiente. Observar macroscopicamente os fungos que aparecerão. Tentar isolá-los, tal como em placa de solo, mas não colocar esterco na placa com meio, pois, outros microrganismos poderão crescer. Se tomado esse cuidado, isso acontecer, isolar o fungo novamente. Observar os fungos ao microscópio, entre lâmina e lamínula.

Para o isolamento de fungos "aquáticos" do solo, ver item 2.3.1.

2.5.2. Preservação

A — Materiais

água destilada ou meio de montagem específico
bálsamo-do-Canadá
benzina
bico-de-Bunsen ou lamparina
esmalte incolor
estante para tubo de ensaio

etiqueta ou lápis para vidro
lâmina para microscopia
lamínula
microespátula ou estilete
tubo de ensaio com meio de cultura, solidificado, sem antibiótico

B — Métodos

A preservação através de repicagens sucessivas é o método mais usado para manutenção de culturas vivas (ver item 2.2.2).

Os microrganismos preservados em lâminas (ver item 2.2.3), devem ser organizados por ordem taxonômica e guardados em armários especiais, os laminários.

2.6
Fungos e líquens macroscópicos

Existe uma variação muito grande de fungos e líquens macroscópicos. Para coleta, preservação e herborização levam-se, especialmente, em consideração, o tamanho e a consistência. Alguns, após coleta, decompõem-se rapidamente, tornando-se impossível reconhecê-los. Nas técnicas recomendadas, procurou-se abranger o maior número de fungos, embora, alguns, exijam procedimentos especiais que fogem ao objetivo deste manual.

Líquens ocorrem tanto sobre madeira como sobre rochas e folhas vivas. Quando sobre pedra, é necessário equipamento especial, como martelo e talhadeira usados pelos geólogos.

São relacionados materiais considerados ideais embora, algumas vezes, dispensáveis ou substituíveis.

Em qualquer caso, cuidado e bom senso são essenciais para uma coleta adequada.

2.6.1. Coleta

A — Materiais

carta de cores
cristalizador
espátula
folha de papel com uma das metades branca e outra preta, para coleta de esporos
frasco de vidro com tampa de plástico (± 200ml)
frasco de vidro escuro com fixador: FAA + sulfato de cobre (ver cap. 6) ou FAA ou álcool a 5%
instrumento com pé-de-cabra, machadinha e martelo, conjugados
martelo e talhadeira (para o caso específico de coleta de material sobre rocha)
papel de filtro ou algodão
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Coletar preferencialmente pela manhã para dispor do resto do dia para o preparo e secagem do material mas, não muito cedo, pois o orvalho deixa o material muito molhado e fácil de embolorar.

Retirar, com faca ou espátula, o material por inteiro com cuidado, afofando em volta do substrato, evitando quebra ou esfarelamento. Trazer junto parte do substrato.

Não misturar materiais diferentes num mesmo saco para evitar mistura de esporos.

Procurar coletar amostra significativa com espécimes em diferentes estágios de desenvolvimento, ou mesmo formas teratológicas ou doentes e assegurar-se, sempre que possível, da presença de partes férteis.

A quantidade de material coletado deverá prever as atividades de intercâmbio da instituição. Deve-se coletar, sempre que possível, um número mínimo de cinco duplicatas. A coleta de material fica limitada às condições de transporte.

Acomodar com cuidado e convenientemente o material coletado dentro da cesta ou sacola. Proteger com folhas de jornal. Quando muito grande embrulha-se em jornal amarrando com barbante. Quando muito pequenos e frágeis (mixomicetos), fixa-se o material com cola plástica no fundo de uma caixa de fósforo.

No caso de fungos e líquens de textura crostosa procurar sobre o solo e outros substratos, como também em qualquer superfície voltada para o solo.

Na coleta de fungos de textura carnosa ou macia (delicada) é aconselhável fotografar ou desenhar o material no local, assim como anotar suas cores, utilizando para tanto uma carta de cores, pois podem mudar muito de aspecto depois de secos. Em seguida, colocar em saco de papel ou plástico acompanhado de pedaços de folhas verdes para preservar umidade.

Tão cedo quanto possível, separar os píleos (Fig. 9) para coleta de esporos (excluídos gasteromicetos cujos esporos se acumulam no interior e em seguida: a. separar o estipe do píleo; b. colocar o píleo sobre o meio da folha de coleta de esporos com as lamelas, dentes, poros ou a parte fértil, voltadas para o papel; metade deve ficar sobre a parte branca e metade sobre a parte negra; c. colocar em câmara úmida (recipiente coberto — cristalizador — contendo em seu interior papel de filtro ou algodão para manter a umidade); d. aguardar 12 horas; e. retirar o fungo, dobrar as folhas, secá-las e guardar no mesmo saco de coleta. Os esporos serão utilizados para identificação da espécie.

Para fungos deliqüescentes, como por exemplo ***Coprinus***, é melhor trazer em saco aberto para diminuir a autodigestão ou colocar diretamente em frasco contendo fixador.

2.6.2. Preservação

A — Materiais

bisturi ou lâmina de barbear
caixa de fósforo ou papelão
cola plástica
estufa (na falta, seca-se ao sol ou próximo a uma lâmpada)
fixador (ver cap. 6)
jornal
placa-de-petri com meio de cultura (preferencialmente, extrato de malte ou BDA — ver cap. 6)
prensa
tampão de gaze e algodão para os tubos de ensaio
tubo de ensaio com meio de cultura

B — Métodos

Para preservação de material seco em herbário, coletar cuidadosamente com a espátula o material de interesse, se possível com parte do substrato. No caso de fungos de aspecto pulverulento, acondicionar os diferentes espécimes em caixas de fósforo ou papelão, de acordo com a conveniência e dimensões do material.

Como geralmente os fungos pulverulentos são frágeis, liberando com facilidade grande quantidade de esporos, sugere-se, no momento da coleta, fixar o material nas caixas, com o auxílio de cola plástica. Esta é mais indicada, por ser menos susceptível ao ataque por outros fungos e insetos e por secar rapidamente.

No caso de fungos crustosos a secagem pode se processar ao sol ou em estufa por cerca de 24 horas a uma temperatura de aproximadamente 40°C.

Os demais fungos são secados ao sol, ou em estufa, no próprio saco de coleta, à temperatura entre 50-60°C. No caso de material carnoso muito espesso ou quando conveniente, cortar em fatias, dispor sobre cartolina, envolver com diversas camadas de jornal, prensar e secar.

Quando um material, após a secagem, se torna muito rígido e quebradiço, recomenda-se deixá-lo absorver a umidade do ar por 24 horas antes de guardá-lo.

Para preservação em meio líquido coloca-se o material em frasco com fixador. Isso pode ser feito no momento da coleta ou depois.

Outros tipos de preservação são a liofilização (ONIONS, 1971) e preservação em meio de cultura por inoculação de esporos ou por pedaços do corpo frutífero.

2.6.3. Herborização

A — Materiais

caixa de papelão (tamanhos diversos — são mais usadas as caixas de 10 x 12 x 5cm, 10 x 12 x 15cm, 14 x 22 x 15cm, respectivamente, de largura, comprimento e altura)

cartolina (ver cap. 5)
envelope de papel
naftalina
paradiclorobenzeno
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Colocar o material seco em caixas de papelão, com tamanho adequado ou embrulhá-lo em papel Kraft dobrado como envelope e colar em cartolina. Quando o material for muito grande, cortá-lo em fatias, que devem ser representativas do aspecto geral do fungo.

No caso de material seco prensado, pregar as partes em folha de cartolina, procurando imitar a posição original.

Para outros esclarecimentos, ver cap. 5.

3

BRIÓFITAS

Olga Yano

3

BRIÓFITAS

3.1
Introdução

A divisão Briófita é constituída de três classes: musgos, hepáticas e antóceros. No entanto, o nome musgo é aplicado pelo leigo tanto a representantes das três classes, como também, a líquens, algumas pteridófitas ***(Lycopodium, Selaginella)*** e, até mesmo, a algumas fanerógamas da família bromeliácea ***(Tillandsia usneoides,*** conhecida como "musgo espanhol" ou "barba-de-velho").

Na coloração, as briófitas são na maioria verdes, variando do verde escuro ao verde-amarelado, exceto os "musgos brancos" e os "musgos de turfeiras" que são paleáceos, róseos e vinosos.

As briófitas crescem nos mais variados substratos tais como: tronco vivo, ou em decomposição, humus, superfície de rochas, solo arenoso, argiloso, calcáreo, folhas vivas, conchas e outros materiais orgânicos.

As briófitas são encontradas tanto em florestas de regiões úmidas, como também no cerrado, na caatinga e mesmo no deserto, onde a umidade relativa é muito baixa.

3.2
Técnicas

3.2.1. Coleta

A — Materiais

caixa de papelão grande
lenço de papel macio
saco confeccionado com jornal (19 x 12,5cm)
tesoura pequena
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Quase não existe técnica especial para a coleta de briófitas, porque o material é de fácil conservação; raramente embolora e quase não é atacado por insetos, quando seco. Como conseqüência, os amadores têm coletado as briófitas desde tempos remotos.

O material, sempre coletado com um pouco do substrato, deve ser secado à temperatura ambiente ou levemente prensado entre jornal ou papel chupão, mas nunca colocado em prensa. Quando a briófita possui caulídio ereto (Ex.: ***Polytrichum***) os indivíduos devem ser arrumados todos numa mesma posição, para evitar o emaranhamento. Sempre que for o caso, deve-se coletar tanto os gametófitos masculinos como os femininos. Havendo poucos esporófitos, estes são separados e colocados juntos, no saco original, com o mesmo número, para evitar que se percam no meio do material. Recomenda-se que o material coletado seja mantido à temperatura aproximada de 23ºC. Em se tratando de briófita aquática ou muito úmida, retira-se o excesso de água, comprimindo-a levemente entre papel chupão, sem espremer e, em seguida, para reduzir a umidade, coloca-se em saco de papel comum ou confeccionado com jornal evitando seu estiolamento ou emboloramento. Permanecendo o material coletado em recipiente, apenas por 1-2 dias, pode-se usar saco plástico, evitando-se excesso de água e compressão. Sendo a expedição muito longa, as coleções de um mesmo local ou do mesmo dia são colocadas em saco plástico grande ou em caixa de papelão com as respectivas data de modo a evitar mistura. Material vivo pode ser assim conservado sob refrigeração (2-3ºC), desde que a planta permaneça apenas úmida e fique solta no saco.

Sempre que possível, coleta-se quantidade suficiente de material para estudos posteriores e para a confecção de duplicatas. Quando muito misturado, o material deve ser dissociado e deixado dentro do mesmo saco. Se em grande quantidade, distribui-se em sacos diversos, sempre com o mesmo número, mas diferenciados por letras. Em cada pacote são escritos os nomes das espécies associadas. Também é importante o uso de sacos pequenos para manter as espécies delicadas, em boas condições ou para estudo microscópico, com a proteção adicional de lenço de papel macio. No próprio saco de papel são feitas as anotações.

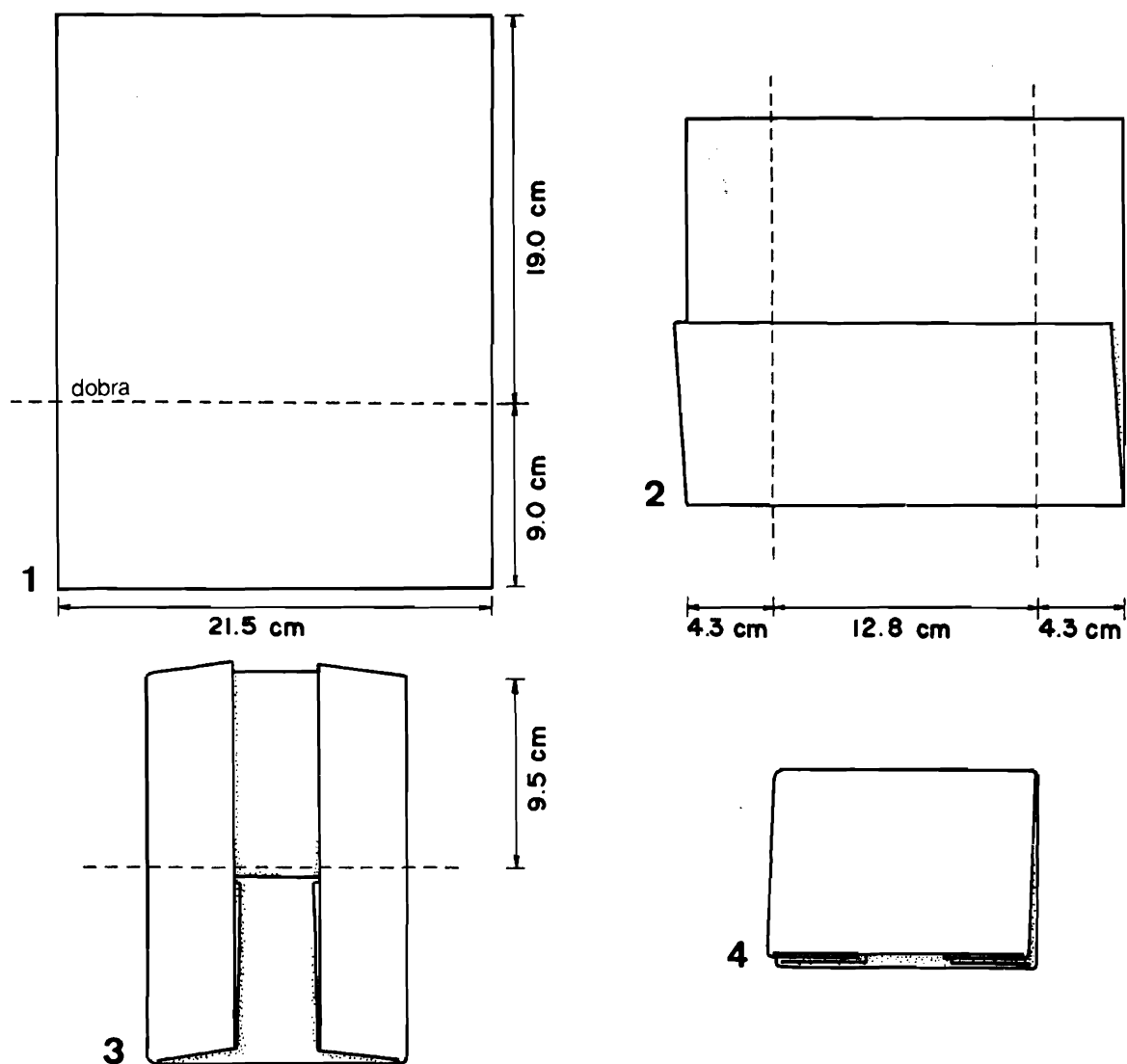



Figura 11. Forma de dobrar folha de papel sulfite, tamanho carta, de 28 x 21,5cm, para a confecção de envelope padrão de 12,8 x 9,5cm.

3.2.2. Preservação

A — Materiais

FAA (ver cap. 6)
formalina (= formol 40%) a 1%
solução de Transeau (ver cap. 6)

B — Métodos

Preservação é somente usada para as estruturas delicadas, como por exemplo, talo, esporófitos e anterídios de hepáticas e antóceros, que são fixados em FAA, solução de Transeau ou em formalina a 1%.

3.2.3. Herborização

A — Materiais

envelope padronizado (12,8 x 9,5cm) de papel sulfite (28 x 21,5cm)

B — Métodos

Para a secagem de briófitas, coloca-se o material entre jornais, espalhando-o e depois apertando-o levemente. Depois de secado à temperatura ambiente ou em estufa (nas regiões tropicais úmidas) o material é colocado em sacos de papel e, em seguida, dentro de um envelope padronizado (12,8 x 9,5cm), confeccionado com papel sulfite, (28 x 21,5cm), conforme modelo indicado (Fig. 11). Esses envelopes são rotulados e colocados em caixas de tamanho padrão ou em gavetas.

4

PTERIDÓFITAS E FANERÓGAMAS

4.1. INTRODUÇÃO

De autoria dos responsáveis pelas partes deste capítulo

4.2. PTERIDÓFITAS

Arnaldo Tosta Silva

4.3. FANERÓGAMAS HERBÁCEAS

Celi Ferreira da Silva Muniz
Maria das Graças Lapa Wanderley
Mizué Kirizawa
Tatiana Sendulsky
Theophilo Salem da Silva

4.4. FANERÓGAMAS ARBUSTIVAS

Angela Maria Maluf
Maria Stella Fernandes Silvestre
Silvia Antônia Corrêa Chiea

4.5. FANERÓGAMAS ARBÓREAS

Alcebiades Custodio Filho
Waldir Mantovani

4.6. FANERÓGAMAS SUCULENTAS OU VOLUMOSAS

Sigrid Luiza Jung
Fábio de Barros

4.7. FANERÓGAMAS AQUÁTICAS

Lucia Camargo de Abreu Oliveira

4
PTERIDÓFITAS E FANERÓGAMAS

4.1
Introdução

A estrutura e o habitat dos vegetais determinam o emprego de técnicas específicas para a coleta e a herborização. Assim, em se tratando de trabalho de cunho eminentemente técnico, as plantas são distribuídas, no presente capítulo, em função das técnicas requeridas e não de acordo com suas relações evolutivas.

Como já salientado no início, os materiais básicos exigidos, tanto para a coleta como para a herborização, constam das relações encontradas no capítulo: INSTRUÇÕES GERAIS. Dessa forma, neste capítulo, só serão listados os materiais mais específicos requeridos na coleta e herborização de exemplares dos conjuntos de plantas aqui considerados.

Quanto às técnicas de coleta e herborização, deve-se levar em conta que existe um padrão básico a ser adotado, no todo ou em parte para os grupos tratados. Por isso mesmo, deixar-se-á para os conjuntos enfocados, na descrição das técnicas, apenas o que for a eles pertinente em termos mais específicos.

Padrão geral da coleta

Sempre que possível deve-se colher um mínimo de cinco exemplares (espécimes ou ramos) de uma planta, em seu estado mais perfeito e completo. Na coleta de uma planta inteira aconselha-se o uso de desplantador que permitirá a retirada do sistema subterrâneo sem grandes danos e não arrancá-la do solo, puxando-a por qualquer de suas partes. Os exemplares não devem ultrapassar 30-40cm. Caso, entretanto, isto venha a acontecer com uma planta inteira, o que ultrapassar deve ser dobrado em V ou N (Fig. 12), de forma a caber na cartolina padrão de herbário. Quando o tamanho do exemplar, espécime ou parte dele (ramos, folhas, etc.) ultrapassar em demasia as dimensões desejadas, recomenda-se seu corte no tamanho adequado e não, quebrá-lo ou rasgá-lo. Cada segmento deve receber, então, a indicação da fração que representa do todo (Ex.: "Parte *um* de cinco partes"). O conjunto de frações relativas a um mesmo exemplar deve permanecer sempre junto e sob o mesmo número de herbário. Os ramos são cortados, sempre que possível, junto com folhas, flores e frutos, indispensáveis que são, em geral, à identificação das plantas. Sendo viável, o espécime a ser conservado em herbário, deve incluir também, raiz e caule. No caso de plantas monóicas díclinas ou de plantas dióicas, especial cuidado deve ser tomado na obtenção de flores de ambos os sexos. Para evitar que flores sejam danificadas por aderência às asperezas do jornal, é recomendado, quando necessário, protegê-las com papel manteiga. Tanto quanto possível, deve evitar-se o corte da extremidade das inflorescências. Frutos secos, que pelo seu tamanho não possam ficar presos aos respectivos ramos, ou frutos carnosos, são colocados em sacos de papel, devidamente rotulados, com numeração igual a do ramo, do qual foram destacados.

Obs.: Evita-se colher material muito úmido, pois, além de dificultar a secagem, propícia o rápido apodrecimento e o emboloramento. Também, não se recomenda coletar frutos e sementes que estejam no chão sob uma árvore, já que podem não pertencer à mesma e terem sido trazidos por enxurradas ou por qualquer outro meio.

Padrão geral de herborização

Coletados os exemplares, estes são arrumados de forma a reproduzir a posição vista no campo, e distendidos em folhas inteiras e dobradas de jornal (nunca meias folhas) ou papel absorvente, colocadas entre papelão canelado com os canais orientados sempre no mesmo sentido e assim sucessivamente de modo a constituir um empilhado entre dois cartões resistentes ou duas tábuas, sendo o conjunto arrochado por uma corda com toda força possível. Formam-se desta maneira as pastas de coleta ou prensas, de fácil transporte (Fig. 37). No campo, o processo de secagem inicia-se nas próprias prensas, pela troca constante e/ou diária das folhas de jornal umedecido por outras secas, ou colocando-as ao sol, por 5-6 dias, em posição tal que favoreça a penetração dos raios solares. Aconselha-se verificar periodicamente, tanto de forma visual como pelo tato, a secagem do material, providenciando troca de papel e, se necessário, o reaperto das prensas para eliminar os espaços que surgem com a di-

minuição do volume. A fim de acelerar a secagem pode-se transferir o material para estufa com circulação de ar quente, onde permanecerá por 10-12 horas ou mais, dependendo de sua consistência. Antes de levar a prensa à estufa, coloca-se uma chapa de alumínio corrugado entre as folhas de papelão canelado com o sentido do corrugado acompanhando o dos canais do papelão enquanto as prensas são colocadas na estufa em posição tal que favoreça a circulação de ar. Evita-se o ressecamento excessivo pois as plantas perderão muito do colorido, além de se tornarem quebradiças. Uma vez secos os exemplares, deles se retira todo material inaproveitável e que não ofereça qualquer informação científica adicional (Ex.: excesso de ramagem, materiais estranhos, folhas secas, partes corroídas ou semi-decompostas, etc.) tornando-os, assim, mais fáceis de serem examinados, mais limpos e em condições de oferecerem melhor apresentação à exsicata. Esta é montada sobre cartolina cortada no tamanho padrão utilizado no herbário (no Brasil, o tamanho mais econômico e usual é o de 42 x 28cm) e à qual o espécime é preso, usualmente costurado, enquanto, materiais delicados ou de pequeno porte são colocados dentro de envelope resistente que é colado à cartolina. Rótulo, contendo os dados de coleta, é igualmente colado. Em seguida registra-se a exsicata apondo sobre a mesma o número de herbário a ela correspondente, bem como, sobre a capa que irá revestí-la. Esta, em bom número de herbários, é de papel pardo resistente, enquanto, em outros usam-se capas diferenciadas em suas cores, de acordo com a correlação estabelecida com sua procedência geográfica.

Obs.: Alguns órgãos vegetais (espatas, frutos e estróbilos) ou amostras de madeira que são de difícil herborização por sua constituição e tamanho, podem ser guardados em coleções separadas, em carpotecas ou xilotecas, mantendo-se no registro o número da exsicata de herbário à qual se relacionem.

4.2
Pteridófitas

Samambaias, avencas, selaginelas, cavalinhas, enfim todos os vegetais que dispõem de sistemas condutores de seiva, que não produzem flores e que se reproduzem por esporos, pertencem à Divisão Pteridophyta.

Trata-se de um grupo de plantas um tanto numeroso, com cerca de dez mil espécies já descritas.

São encontradas nos mais variados habitats, tais como: solo; água; sobre pedras ou árvores; nos barrancos de estradas, de rios e de riachos; nos arredores de casas e construções; nos cerrados, matas, etc.

Tem havido grande interesse por estas plantas, principalmente na ornamentação, devido à popularidade de muitas espécies. Contudo, outras são destacadas como medicinais, tóxicas, infestantes de pastagens, comestíveis, etc.

4.2.1. Coleta

A — Materiais

desplantador (ou outro implemento que sirva para a remoção das plantas) — Fig. 31
estopa
tesoura de poda
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Ver 4.1. PADRÃO GERAL DE COLETA

As plantas destinadas ao cultivo devem ser coletadas quando ainda jovens, isto é, em forma de "mudas". Quando novas, as plantas apresentam maior viabilidade para adaptação nos ambientes em que são cultivadas. Contudo, algumas espécies de pteridófitas, são pouco prejudicadas com o transplante.

Os rizomas também podem brotar e constituir novas plantas.

Para fins taxonômicos, as pteridófitas, devem ser coletadas apenas quando férteis, ou seja, quando possuem órgãos de reprodução assexuada. Nas pteridófitas, estes órgãos não formam flores, e sim soros, conjunto de esporângios, visíveis com auxílio de uma lupa ou mesmo a olho nu, dentro dos quais se acham os esporos.

Todas as partes de uma pteridófita são necessárias à taxonomia, portanto, cada planta deve ser coletada inteira. A ausência de qualquer parte, desvaloriza e, às vêzes, até impossibilita uma identificação precisa, razão pela qual se recomenda o emprego de desplantador, tesoura de poda e estopa para a coleta, sem causar grandes danos, e a necessária proteção do material.

No caso das psilotáceas, himenofiláceas e outras que possuem rizoma muito incrustado em seus substratos, parte deste deve ser removido junto com a planta.

Das arbóreas, coleta-se a fronde toda, inclusive as escamas da base da raque, se for o caso.

4.2.2. Preservação

A — Materiais

Conforme requeridos pelo método escolhido (ver 4.2.2.B)

B — Métodos

Há grande diversidade de porte e de habitat entre as pteridófitas. Assim sendo, é possível encontrar-se pteridófitas herbáceas, arbustivas, arbóreas e aquáticas. As técnicas de preservação diferem entre si, mas, equivalem-se às utilizadas para plantas fanerogâmicas em condições equivalentes, onde essas técnicas são descritas.

4.2.3. Herborização

A — Materiais

Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Ver 4.1: PADRÃO GERAL DE HERBORIZAÇÃO, com as seguintes recomendações: a. as pteridófitas e, entre elas principalmente avencas e himenofiláceas, devem ser imediatamente prensadas para evitar o enrolamento dos bordos; b. as espécies mais delicadas devem ser colocadas em pasta à parte, pois merecem secagem mais gradual e menos intensa, para evitar a falsificação da cor e a quebra do material botânico, quando manuseado depois de sêco.

4.3
Fanerógamas herbáceas

Em qualquer ecossistema, observa-se a presença de plantas de pequeno porte, com órgãos epígeos ou subterrâneos com pouca ou nenhuma lignificação. Estas são plantas herbáceas, geralmente de caule fino e delicado, no qual o meristema do câmbio vascular acha-se ausente ou com desenvolvimento. No entanto, em certas famílias ocorrem herbáceas de grande porte, tais como: musáceas, gramíneas, marantáceas, etc.

As plantas herbáceas são comuns em monocotiledôneas e em várias famílias de dicotiledôneas. Das angiospermas que possuem bulbos ou colmos, a maioria é monocotiledônea, especialmente da ordem Liliales.

As herbáceas são em geral anuais, isto é, florescem e frutificam em um ano; mas há, também, representantes bienais, que completam seu ciclo vital em dois anos, ou as perenes, que continuam indefinidamente o processo biológico, em geral com floração anual.

Adaptações morfológicas ou fisiológicas existentes em várias plantas herbáceas possibilitam que sobrevivam em habitats desfavoráveis. O grupo das plantas efêmeras, xerófitas, resiste à seca, porque completa seu ciclo de vida, enquanto há água disponível no ambiente (plantas anuais); outras herbáceas adaptadas a ambientes áridos são as portadoras de sistema subterrâneo, com reservas nutritivas, que lhes permitem suportar a seca ou o frio. É comum também, em muitas gramíneas e ciperáceas de campos cerrados, a presença de restos de bainhas foliares (túnicas), protegendo as partes vivas da planta na época das queimadas. Certas gramíneas, convolvuláceas, malpiguiáceas, amarantáceas, etc. contribuem, com seus estolões e rizomas para reduzir a movimentação de dunas.

4.3.1. Coleta

A — Materiais

desplantador (Fig. 31)
picaretinha (camartelo)
tesoura de poda

Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Ver 4.1: PADRÃO GERAL DE COLETA

4.3.2. Preservação

A — Materiais

álcool
água destilada
FAA (ver cap. 6)
frasco de vidro com tampa (vários tamanhos)
glicerina pura
parafina ou cera de abelha ou breu
pinça
Sulfato de cobre

B — Métodos

Muitas vezes surge a necessidade de preservar a planta em líquidos apropriados, principalmente, quando se trata de plantas muito pequenas e delicadas, que facilmente se prejudicam pela secagem. Também costuma-se fixar a planta inteira (pequeno porte), ou partes da planta, como flores e frutos carnosos, em frascos ou tubos de tamanhos variados.

Na preservação, devem ser tomados os seguintes cuidados: deixar os frascos parcialmente cheios de líquido conservador, com um pequeno espaço vazio entre a superfície líquida e a tampa; imergir completamente as partes vegetais; colocar apenas uma espécie em cada frasco; colocar dentro do frasco, com a face escrita aposta naturalmente à parede interna, o rótulo escrito a lápis, numerado e com indicações precisas sobre a cor das partes; não forçar a posição natural da planta dentro dos frascos, principalmente no caso de preparação definitiva para mostruários; calafetar os interstícios com parafina, ou mistura fundente de parafina e partes iguais de cera de abelha e breu, quando aplicar ao frasco e a tampa esmerilhada ou de cortiça, com sua superfície previamente bem enxuta e limpa com um solvente qualquer (xilol, gasolina ou benzina).

Como principais preservadores de estruturas para estudos morfológicos e anatômicos usam-se soluções de álcool etílico 70%, 85% e mesmo 90% conforme o caso.

Apesar de muito usado, o álcool tem o inconveniente de descorar por completo as plantas e torná-las duras e quebradiças. No entanto, submetendo-as a uma breve fervura na hora do estudo, ou a uma permanência mais ou menos prolongada em água fria, podem tornar-se mais macias e flexíveis.

4.3.3. Herborização

A — Materiais

Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Ver 4.1. PADRÃO GERAL DE HERBORIZAÇÃO

Caso os espécimes herbáceos, de 1,0m a 1,5m (como certas gramíneas), tenham tendência de se desdobrarem, devem ser amarrados levemente ou presos com a segunda capa colocada dentro da primeira pasta em posição oposta, para que não se soltem pelas laterais do invólucro. Ao amarrá-los, não se utiliza esparadrapo ou fita adesiva.

Em plantas muito altas, a superposição de folhas e ramos deve ser evitada, cortando-se a planta em porções menores, ou herborizando apenas as partes basal, média e terminal, como em certas gramíneas. Neste caso, não esquecer de numerar a folha onde cada parte foi colocada, segundo a ordem natural em que estava localizada na planta.

Quando se tratar de herbáceas providas de muitas folhas (bromeliáceas), ou de caules espessos (aráceas), é conveniente seccionar as plantas longitudinalmente em duas partes.

Para se obter melhor herborização de exemplares de folhas muito grandes, como certas marantáceas e musáceas, pode-se recorrer ao corte ao longo da nervura mediana, e posterior dobramento em V ou N (Fig. 12) ou divisão em partes, já referidos.

4.4
Fanerógamas arbustivas

Define-se arbusto como vegetal lenhoso, de menos de 5m de altura, sem um tronco preponderante, que se ramifica a partir da base.

Os arbustos estão compreendidos entre as plantas lenhosas, nas quais os tecidos de sustentação e condução do caule formam camadas que se acrescentam ano a ano. O crescimento do caule continua a cada ano, a partir do tecido embrionário que se forma nos vários pontos de crescimento. Incluem-se nas plantas lenhosas perenes quando vivem mais de dois anos. Na maioria dos casos, formam os órgãos vegetativos no primeiro ano, mas só produzem flores uma ou mais estações depois, desde que as condições sejam favoráveis.

4.4.1. Coleta

A — Materiais

cajado de corda
frasco de vidro com tampa (vários tamanhos)
gancho para abaixar e/ou cortar galhos (formatos diversos) — Fig. 13-16
tesoura de alto-poda com cabo de encaixe (Fig. 17-19)
tesoura de poda manual
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Ver 4.1: PADRÃO GERAL DE COLETA

Obs.: No caso de usar sacos plásticos, não esquecer de etiquetar o material coletado para caracterizá-lo bem e não confundí-lo com outras coletas.

Para a coleta de ramos de partes muito altas utilizam-se ganchos para abaixar e/ou cortar galhos, de formatos diversos (Fig. 13-16) ou tesoura de alto-poda com cabo de encaixe (Fig. 17-19).

Nem sempre se encontram flores e frutos simultaneamente no mesmo pé, conseqüentemente, deve-se ter a atenção despertada para colhê-los na primeira oportunidade. O mesmo aplica-se a plantas que perdem as folhas na floração.

Para plantas dióicas, isto é, que possuem flores masculinas e femininas em pés diferentes, sugere-se procurar pelas redondezas a de sexo oposto. Semelhante procedimento deve ser tomado quando houver época de maturação diferente entre as flores de cada sexo, no mesmo pé (plantas monóico-diclinas).

Cabe chamar a atenção para o fato de que muitas plantas possuem flores minúsculas que somente são perceptíveis com a lupa na mão.

4.4.2. Preservação

A — Materiais

álcool 70%, 85% e 90%
etiquetas
FAA (ver cap. 6)
frasco com tampa esmerilhada

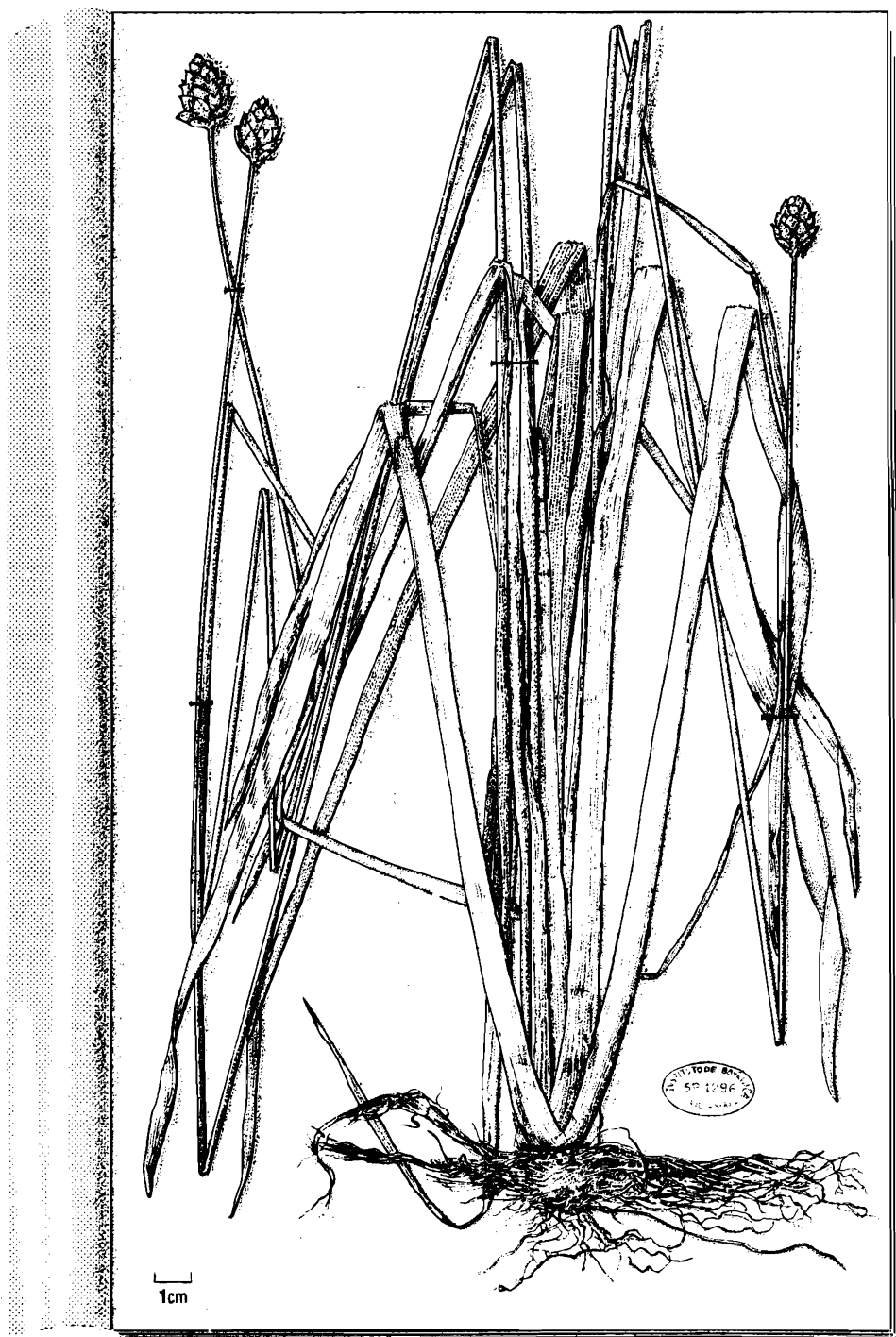



Figura 12. Exsicata com uma planta inteira que ultrapassa o tamanho da folha de herbário, mostrando como deve ser dobrada e arrumada.

líquido de Hammarlund (ver cap. 6)
solução aquosa de ácido sulfuroso a 5-6% (ver cap. 6)
solução aquosa de formalina (= formol 40%) a 10%
solução aquosa de sulfato de cobre a 5% (ver cap. 6)
solução de álcool a 90% com água destilada e glicerina pura, em partes iguais

B — Métodos

Algumas plantas devem ser preservadas em meio líquido. Frutos carnosos ou flores muito tênues são colocados em tubos ou frascos de tamanhos variáveis.

As recomendações descritas em 4.3.2.B para o uso de líquido conservador, aqui também se aplicam. Para conservação da cor verde do material, adiciona-se sulfato de cobre à solução de FAA (ver cap. 6). Depois de retirado o excesso de sulfato do material por lavagem, a planta é transferida definitivamente para a mesma solução sem sulfato. Em se tratando de partes suculentas, acrescenta-se, à solução, definitiva, até 20% de glicerina. As plantas submetidas a estes diversos líquidos, poderão ser novamente preparadas a seco na prensa, depois de lavadas e enxutas.

Além deste processo, o mais usado é o emprego de álcool a 70%, 85% e mesmo 90%, conforme o caso. Quanto aos inconvenientes que determina, veja 4.3.2.

Outra solução conservadora é a de formol comercial (formalina), que não age tão violentamente como o álcool na descoloração dos tecidos.

Para partes vegetais que se tornaram quebradiças, em especial as carnosas, recomenda-se uma mistura, em partes iguais, de água destilada, álcool a 90º e glicerina pura.

Esta mistura poderá ser usada também como amolecedor de material seco de herbário.

Excelentes resultados na conservação de cores naturais das plantas são obtidos pelo emprego do processo de Drummond e do líquido de Hammarlund (ver cap. 6.1, b-c).

4.4.3. Herborização

A — Materiais

Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Ver 4.1: PADRÃO GERAL DE HERBORIZAÇÃO

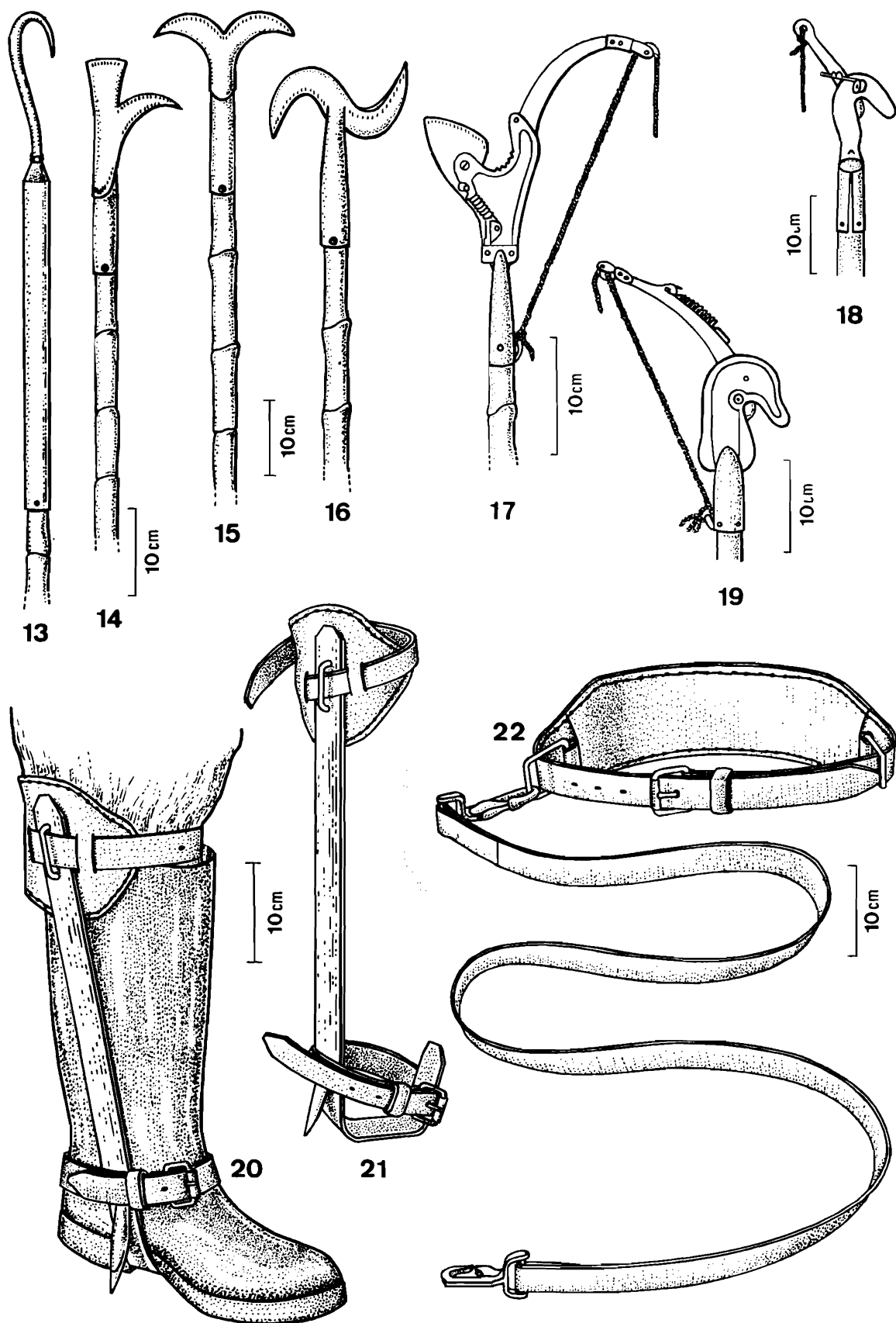
4.5
Fanerógamas arbóreas

As árvores são plantas lenhosas perenes que apresentam um caule principal, sem ramificações, que se distingue da copa. São os maiores vegetais existentes, atingindo vários metros de altura.

O principal problema na coleta das amostras para herborização de espécies arbóreas é a localização dos ramos férteis, geralmente nas partes mais altas do vegetal. Além disto, é freqüente encontrar-se árvores em formações densas, com suas copas entrelaçadas, aumentando a dificuldade da amostragem.

4.5.1. Coleta

A — Materiais

cinto de segurança (Fig. 22)
escada de alumínio com extremidades encaixáveis (produção comercial)
escada de corda (Fig. 23)
espingarda
espora especial (Fig. 23)
estribo de ferro (Fig. 23)
ganchos (Fig. 13-16)
gancho de ferro para escalada na escada de corda (Fig. 23)
lance de alumínio ou bambu encaixável
linha de náilon resistente

Figuras 13-16. Ganchos. Figuras 17-19. Tesouras de alto-poda. Figuras 20-21. Espora especial. Figura 22. Cinto de segurança.

peso de chumbo (50-300g)
serra, serrote ou motosserra
serra articulada (Fig. 27)
tesoura de alto-poda com cabo de encaixe (Fig. 17-19)
tesoura de poda manual

Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Ver 4.1. PADRÃO GERAL DE COLETA

Um dos métodos mais simples para a coleta de plantas arbóreas é o do uso de ganchos (Fig. 13-16) presos numa extremidade de varas de altura desejada, fixa, ou num lance encaixável de alumínio ou de bambu. Por tração ou empuxo os ramos florísticos e/ou frutíferos são derrubados.

Utiliza-se, também, tesoura de alto-poda que é elevada até o ramo desejado, através de lances encaixáveis de alumínio ou bambu de fácil transporte e manuseio (Fig. 17-19). A tesoura é acionada mecanicamente por um cordel.

Em certos casos emprega-se espingarda de calibre 22 a 45 alvejando o ramo desejado.

A escalada de árvores, para coleta, pode ser feita com auxílio de esporas que se prendem ao calçado e se fixam nos troncos e de correias presas a uma cinta e passadas ao redor do tronco, segurando o coletor (Fig. 20-22, 24). Neste processo recomenda-se um bom treinamento prévio.

Diferentes tipos de escadas podem ser utilizadas na coleta de plantas arbóreas. A escada articulada é encontrada no mercado com lances de 2m, é de alumínio, de fácil manuseio, bem como, resistente e leve para o transporte. Cada lance é provido de uma correia de couro pela qual se prende ao tronco do vegetal e com encaixes para o lance seguinte. A escada de corda (KUHLMANN, 1947), consiste de uma corda com nós simples, espaçados de aproximadamente 30cm entre si. Esta corda tem presa na sua extremidade um gancho de ferro que a fixará num ramo capaz de suportar o peso do coletor (Fig. 23). A fixação da escada de corda é feita com o arremesso de um peso amarrado a uma linha de náilon (ver forma de arremesso — Fig. 25), que além de servir para o posicionamento da escada, servirá também para sua retirada (Fig. 25). A extremidade da corda que fica no solo é presa a um toco, raiz ou pino (Fig. 23), a fim de evitar oscilações. Para sua utilização são necessários dois ganchos, ajustados ao calçado por meio de correias, que servirão para o apoio nos nós. Por segurança, usa-se um gancho preso a um cinturão de couro, que também se apoia na escada por um nó e libera as mãos do coletor para manejo dos instrumentos de corte. Em ambas as escadas, ao atingir o local adequado e, conforme a disposição e/ou resistência do material a ser coletado, o coletor usará tesoura manual ou de alto-poda, serra, serrote ou motosserra.

Outra técnica que pode ser utilizada para a coleta consiste no arremesso manual de uma peça de metal pintada (branca ou vermelha) de 200-300g, presa a uma linha de náilon, que deve passar sobre o ramo desejado (Fig. 25). O arremesso pode ser feito também por meio de estilingue usando-se uma peça de 50-100g. A linha de náilon prende-se a uma corda na outra extremidade que é assim passada sobre o ramo. Juntando-se as duas pontas da corda e tracionando-a, o ramo deve partir-se e vir ao solo. Neste processo pode-se acrescentar as técnicas descritas por KUHLMANN (1947) que incluem o uso de serra articulada ou fixa na parte mediana da corda (Fig. 26-27), serrando-se o ramo desejado.

4.5.2. Preservação

A — Materiais

etiqueta
formalina (= formol 40%) ou FAA (ver cap. 6)
frasco de vidro com tampa (vários tamanhos)
lápis ou caneta a prova d'água
parafina

B — Métodos

Consiste em colocar a planta ou partes da planta em frascos contendo fixador (FAA ou formalina).

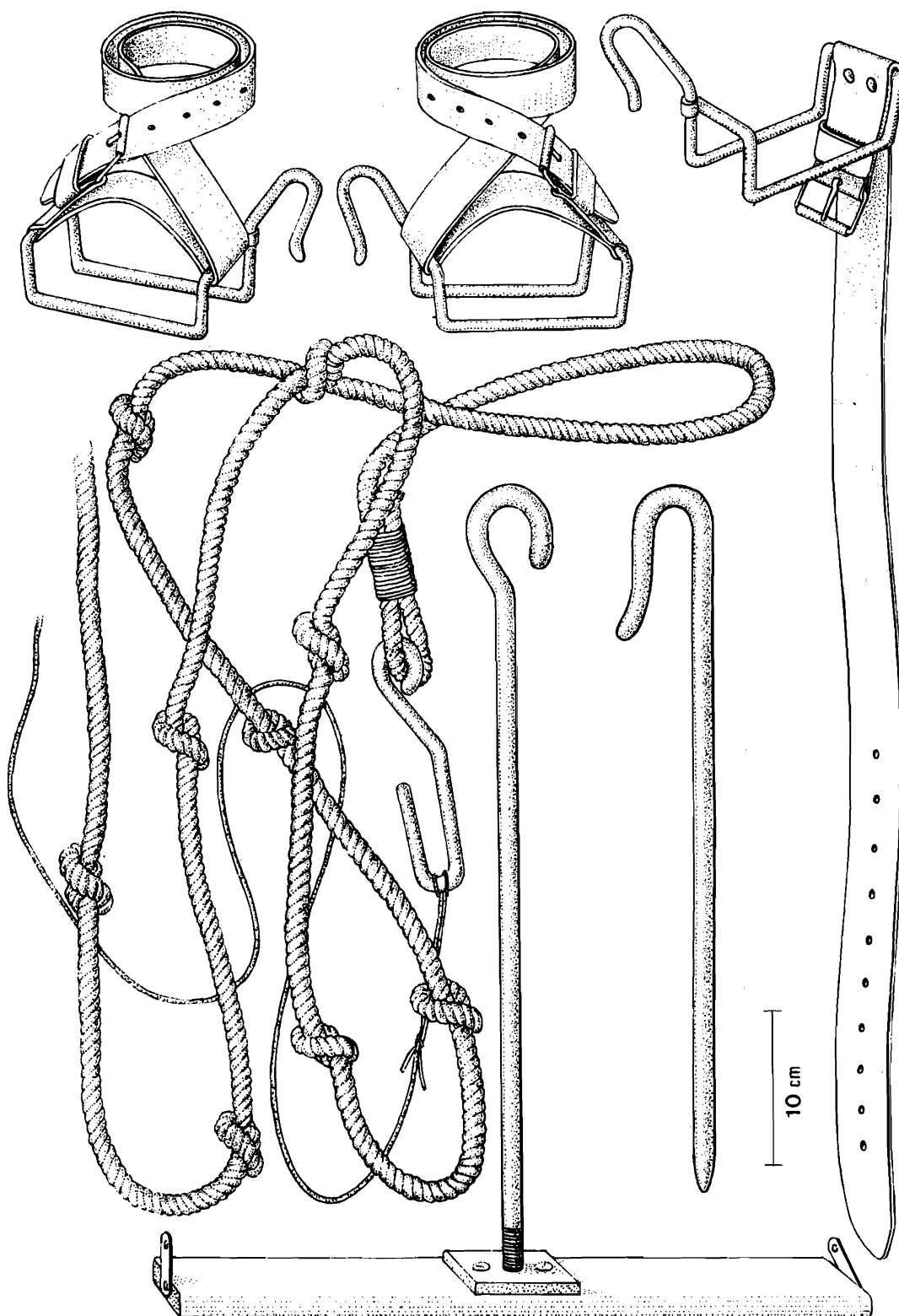



Figura 23. Apetrechos para subida em árvores: escada de corda; pino de fixação; ganchos presos em correias; gancho preso em cinturão de couro (Kuhlmann, 1947).

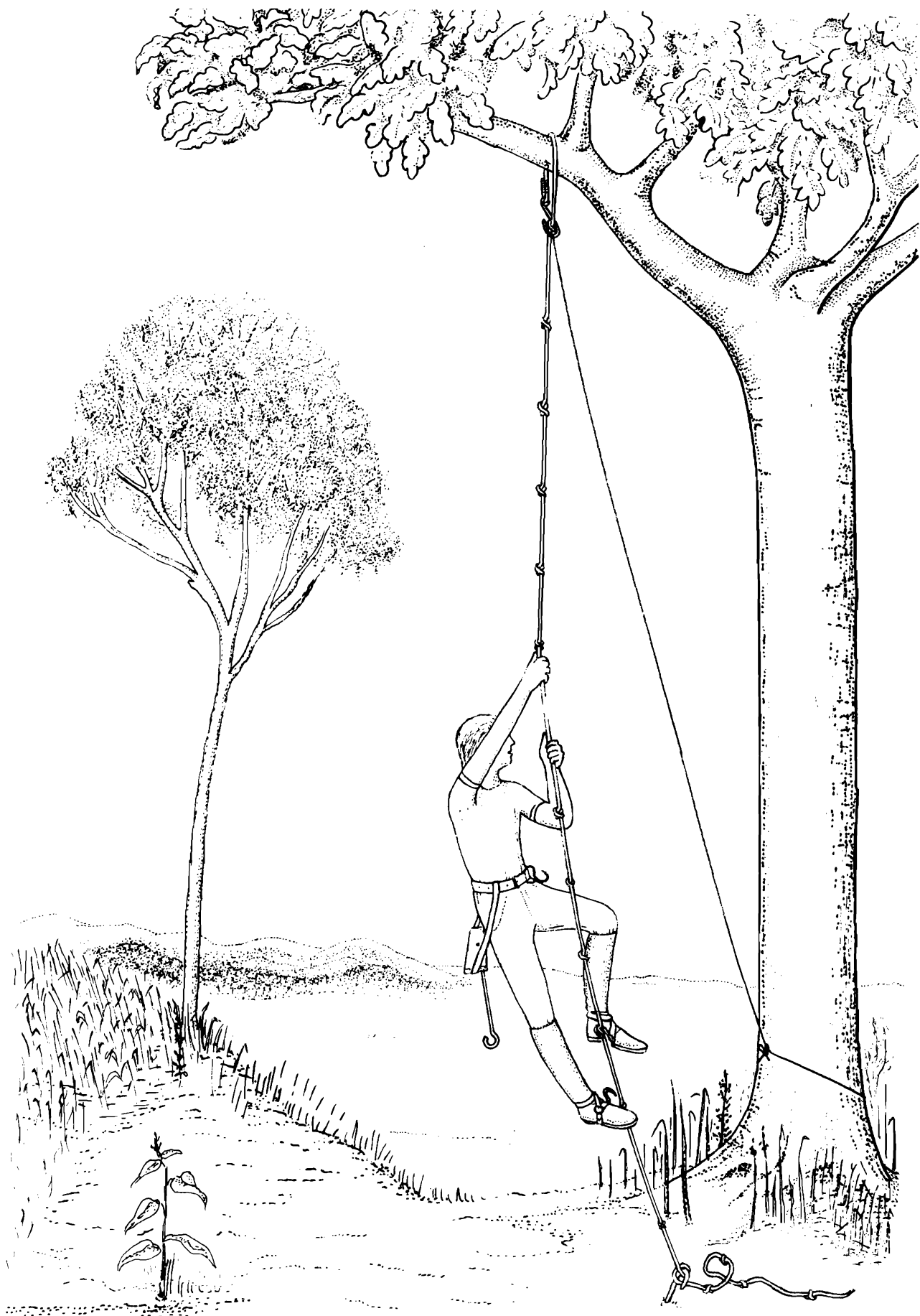
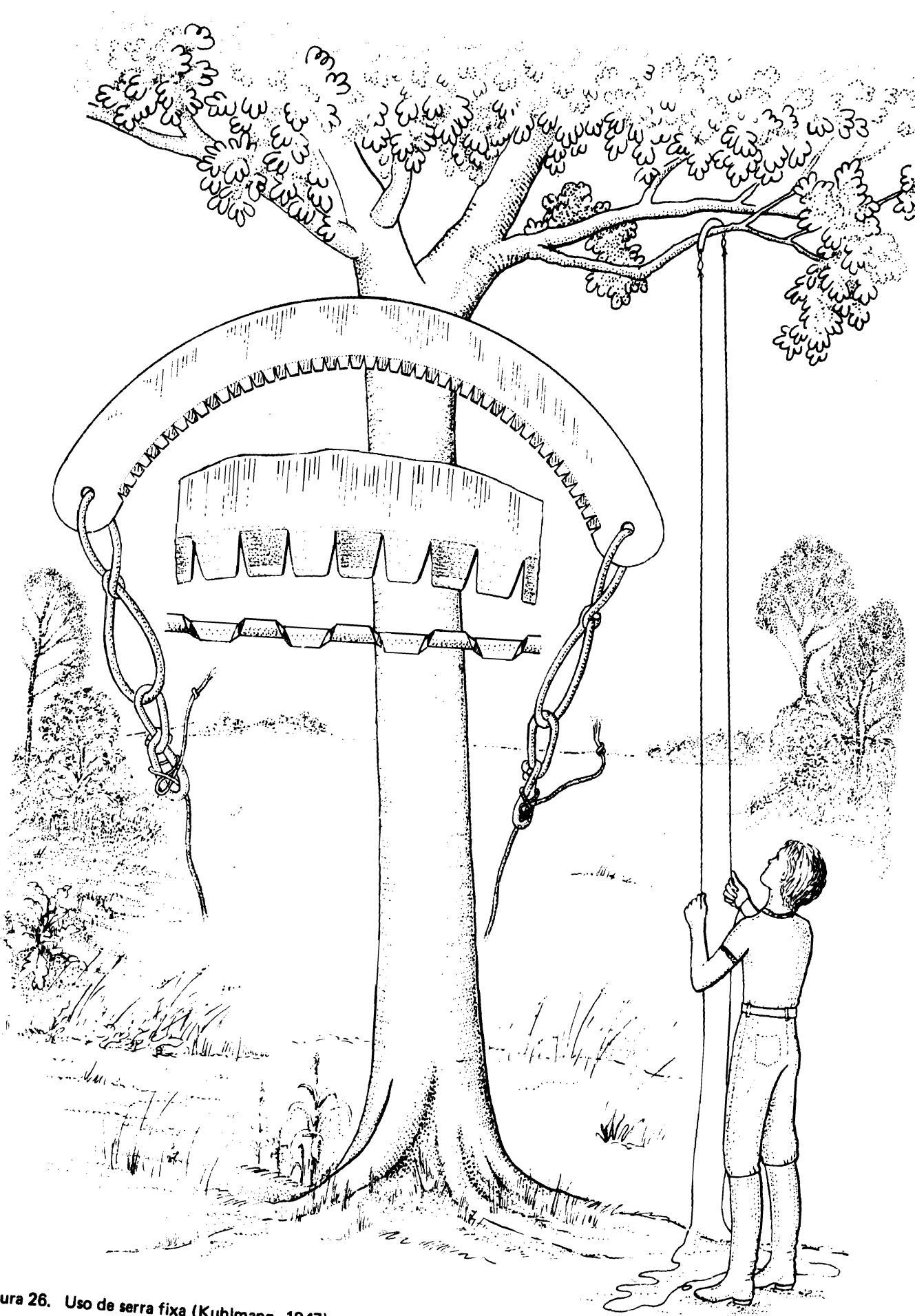



Figura 24. Forma correta de uso da escada de corda (Kuhlmann, 1947).

Figura 25. Arremesso manual de peso de chumbo (Kuhlmann, 1947).

ura 26. Uso de serra fixa (Kuhlmann, 1947).

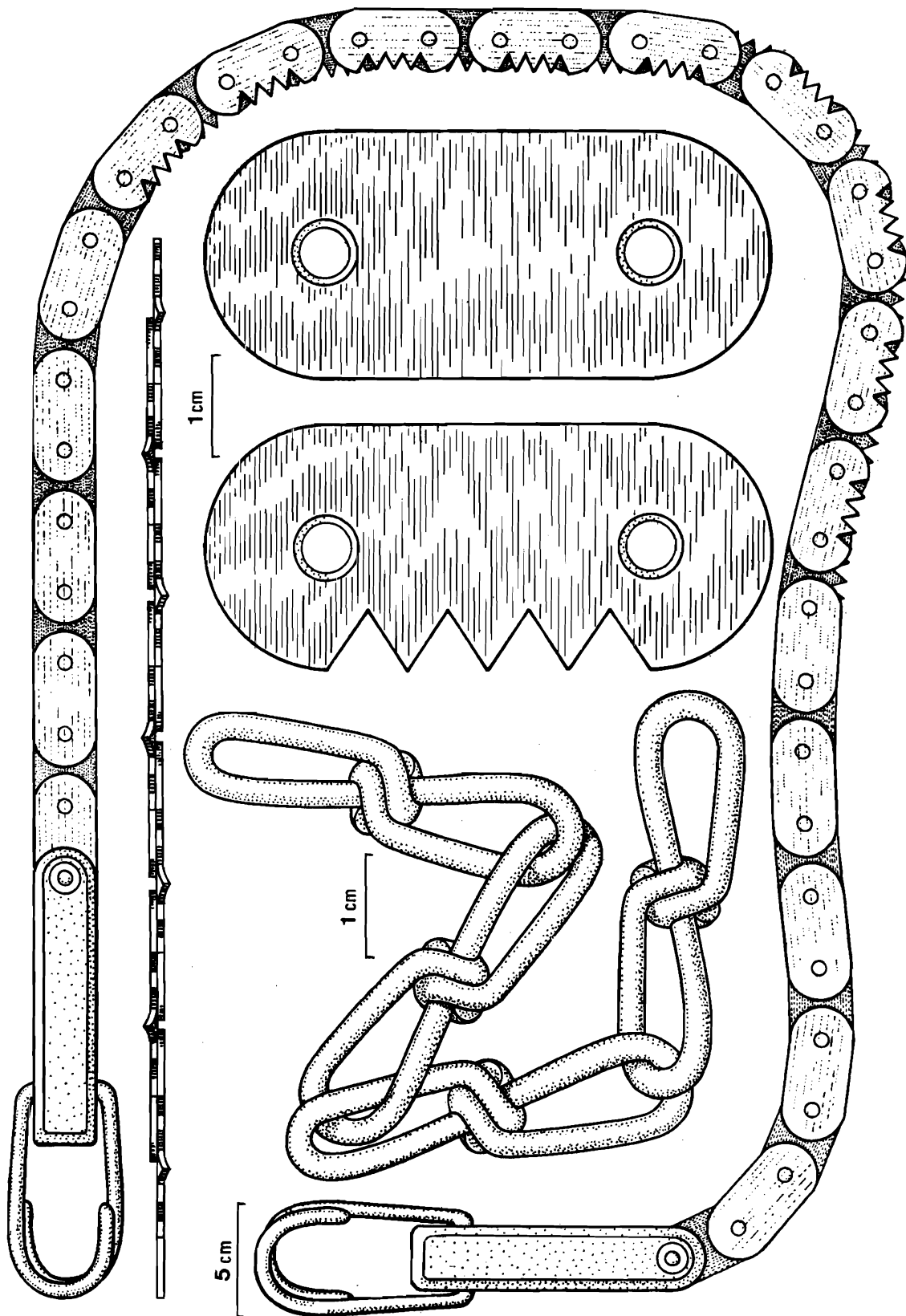



Figura 27. Serra articulada (Kuhlmann, 1947).

Os dados sobre a planta, devem ser escritos a lápis ou a caneta à prova d'água numa etiqueta de papel e colocados dentro de um vidro com o material. Deve-se cuidar para que a concentração inicial do preservado não seja alterada por evaporação ou por diluição, em conseqüência de perda de água pela própria planta.

Os frascos tampados devem ser calafetados com parafina.

4.5.3. Herborização

A — Materiais

Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Ver 4.1: PADRÃO GERAL DE HERBORIZAÇÃO

4.6
Fanerógamas suculentas ou volumosas

Materiais botânicos muito volumosos, como grandes frutos, flores carnosas, plantas suculentas, ou mesmo, caules e raízes muito desenvolvidos, apresentam dois grandes problemas na herborização: precisam ser mantidos durante mais tempo na secagem e, ao serem prensados perdem muitas das formas primitivas da planta viva por amassamento ou enrugamento. Além disso, muitas plantas suculentas, como crassuláceas e partes vegetativas de orquídeas, resistem muito aos métodos usuais de secagem e não morrem, podendo continuar seu crescimento, perdendo as folhas e adquirindo uma aparência anormal.

As orquídeas normalmente apresentam um acentuado contraste entre a suculência das partes vegetativas e a tenuidade das flores, de forma que, ao serem secas segundo as técnicas usuais, as flores tornam-se ressecadas, enquanto as partes vegetativas mal começam a secar. São, portanto, necessárias precauções especiais.

4.6.1. Coleta

A — Materiais

desplantador (Fig. 31)
tesoura de poda
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Ver 4.1. PADRÃO GERAL DE COLETA

As plantas suculentas e as volumosas são coletadas segundo os métodos usuais. Geralmente podem ser mantidas em sacos plásticos fechados até o final do período de coleta sendo, só então, prensadas. Isso é possível, por se tratar de material relativamente resistente ao dessecamento e a eventuais danos no transporte.

No caso específico das orquídeas, é aconselhável prensar-se a inflorescência já no campo, deixando-se as partes vegetativas para preparo posterior. Nunca é demais lembrar que, no preparo das partes de uma planta, deve-se tomar o cuidado de numerá-las, para que não haja confusão e mistura de materiais.

4.6.2. Preservação

A — Materiais

álcool 50% a 70%
etiqueta
FAA (ver cap. 6)
formalina (= formol 40%)
glicerina

parafina
sulfato de oxiquinolina
vidraria

B — Métodos

Em alguns casos, recomenda-se a conservação da planta ou parte dela em líquido preservativo, para manter o material quase indeformado e, para tanto, o uso da solução a 10% de formalina ou da solução de álcool etílico (50%-70%) com um pouco de glicerina ou de FAA (ver cap. 6) é indicado.

Um excelente auxiliar de campo é a solução aquosa de sulfato de oxiquinolina de 0,1% a 1% (SWINGLE, 1930). Sua grande vantagem é poder ser preparada no local de trabalho, pois pequena quantidade de soluto em água é suficiente para prevenir o desenvolvimento de bactérias. Além disso, não é venenosa, nem volátil. A única desvantagem sobre o álcool e o formol é sua ação antisséptica ser restrita a um período curto.

No caso de preservação de flores e, mais especificamente, das de orquídeas, o líquido mais usado é o álcool 70% com 10% de glicerina (ver cap. 6).

Os dados sobre a planta devem ser escrito a lápis ou a caneta, com tinta à prova d'água, numa etiqueta de papel que é colocada dentro do vidro com o material.

Deve-se cuidar para que a concentração inicial do preservado não seja alterada por evaporação ou por diluição devida à perda de água pela própria planta, o que pode ser evitado, calafetando-se os frascos tampados com parafina ou trocando-se o líquido com freqüência, respectivamente.

Sendo o material preservado em líquido correspondente a uma coleta depositada em herbário, é importante fazer-se a referência cruzada.

4.6.3. Herborização

A — Materiais

água
areia
caixa ou frasco com tampa (vários tamanhos)
faca com bainha (Fig. 32)
formol
naftalina
sal
vinagre (ácido acético)
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Ver 4.1. PADRÃO GERAL DE HERBORIZAÇÃO

Os frutos, tubérculos, bulbos, raízes tuberosas grandes e xilopódios podem ser cortados em secções longitudinais e transversais com espessura de 0,5-1,0 cm e secos na prensa, juntamente com as demais partes da planta. O aspecto externo do material é importante, sendo aconselhável que se herborize, juntamente, um trecho da estrutura de revestimento. Essas estruturas também podem ser penduradas intactas na estufa e, após secagem, guardadas em coleção à parte. No caso de flores grandes, como as de certas cactáceas, parte-se uma flor longitudinalmente ao meio, utilizando-se apenas uma metade, a fim de que as estruturas internas sejam facilmente observadas.

As plantas com órgãos suculentos, como pseudobulbos de orquídeas, folhas de babosa ***(Aloe)***, pita ***(Fourcroya)***, folha-da-fortuna ***(Kalanchoe)***, necessitam de muito tempo para secar, pois a água é fortemente retida pelo tecido vivo. Para contornar este problema, mata-se a planta antes de prensá-la, o que torna a perda da água mais rápida. O método consiste em mergulhar-se a planta em vinagre, álcool, formol ou numa mistura dos dois últimos por algum tempo (cerca de uma hora, variando com a suculência da mesma) ou então, em água fervente durante cerca de um minuto (TOLEDO, 1942). Neste último caso, desejando-se manter a cor verde natural sem grande alteração acrescenta-se um pouco de sal à água, evitando-se o excesso, pois o sal, sendo higrófilo, pode ocasionar problemas de umidade nos espécimes de herbário. Nunca se deve colocar as flores em água quente. Após mergulhar os materiais em líquidos, deve-se enxugá-los, em papel absorvente, antes de colocá-los na prensa. Pode-se es-

palhar um pouco de naftalina sobre o material úmido, que além de absorver a umidade funciona também como fungicida (JOHNSTON, 1939). Como alternativa, coloca-se o material entre duas folhas de papel absorvente e passa-se cuidadosamente com ferro elétrico, completando-se a secagem em estufa (BIMONT, 1945). Um procedimento pouco conhecido, mais trabalhoso, mas que traz bons resultados, é o "banho de areia" (HARRIS, 1977). A planta é deitada num recipiente em cujo fundo tenha sido colocada uma fina camada de areia lavada; areia intensamente aquecida, é então despejada sobre a planta. Deixa-se esfriar o conjunto e, posteriormente, retira-se o material para prensá-lo e secá-lo em estufa. Plantas excessivamente suculentas, especialmente certos pseudobulbos de orquídeas (a maioria dos ***Catasetum, Cycnoches*** e ***Cyrtopodium***), várias bromeliáceas e cactáceas, podem receber talhos nas regiões carnosas, o que facilita a evaporação da água durante a secagem. É também comum fazer-se um corte longitudinal por onde se retira parte do tecido interno. Plantas com formas excêntricas, são encontradas com certa freqüência entre euforbiáceas e cactáceas. No caso dos cactos, pode-se utilizar apenas algumas costelas ou apenas uma costela florida, acompanhada por uma secção transversal da planta, para mostrar o número de costelas que a compõem. Aconselha-se anotar no rótulo, que acompanha o espécime de herbário, o procedimento adotado para orientar estudos futuros.

É preciso salientar que, para todas as plantas ou partes de plantas volumosas citadas anteriormente, deve-se tomar o cuidado de suplementar as informações, com anotações pormenorizadas, fotografias e/ou bons esquemas, a fim de que, o aspecto geral da planta não seja perdido.

4.7
Fanerógamas aquáticas

Os limites do conceito de planta aquática variam de um autor para outro.

Em termos gerais são considerados, como "planta aquática", os vegetais que, para sua sobrevivência e propagação, necessitam mais da água do que do solo ou que, mesmo quando fixos neste, não a dispensam, pois tanto para germinação como para o crescimento exigem que pelo menos suas raízes nela fiquem imersas (THEOPHRASTUS *in* SCULTHORPE, 1967; HOEHNE, 1948; FASSETT, 1957). Muitos autores não enquadram entre "plantas aquáticas", as de brejo, de quedas d'água, ou de águas salgadas e salobras.

Para efeito de técnicas de coleta, preservação e herborização, o que realmente importa são os cuidados especiais que esse agrupamento venha requerer, em função da estrutura de seus órgãos e do excesso de água acumulado nos tecidos.

O cultivo de plantas aquáticas não pede muitos cuidados. Espécies flutuantes, dado o colorido e beleza de suas folhas e flores, são muito utilizadas como ornamento em lagos, tanques, represas, etc., enquanto as submersas são usadas tanto para embelezar aquários como para suprí-los de oxigênio.

Plantas aquáticas são muito procuradas, pois, suas folhas servem como esconderijo para peixes e outros animais contra seus predadores e como fonte de alimento para seres de vida aquática.

4.7.1. Coleta

A — Materiais

balde
balsa com dois varejões
bota de borracha de cano médio e longo
camartelo
desplantador (Fig. 31)
enxada (Fig. 29)
luva de borracha
pá
peneira de tamanho médio com malha fina
picaretinha
tesoura de poda
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Ver 4.1. PADRÃO GERAL DE COLETA

Não há dificuldade para a coleta de plantas aquáticas, apenas são necessários certos cuidados que variam de acordo com o local onde se encontram. No caso de águas mais ou menos profundas, como as de certos lagos, represas, rios, etc., utiliza-se uma balsa por oferecer maior segurança e estabilidade. É recomendado o uso de salva-vidas como medida de precaução mesmo para quem saiba nadar, assim como o uso de alpargatas, mais fáceis de serem removidas do que botas, no caso de queda na água.

Na falta de balsa e salva-vidas, sugere-se amarrar uma corda na cintura do coletor enquanto outro fica na margem, segurando-a durante a coleta, devidamente atento a qualquer emergência.

O uso de luvas e de botas de borracha com cano longo (até as virilhas) é aconselhável para evitar que o coletor se contamine em águas poluídas. As botas de borracha com cano médio são recomendadas para evitar picadas de animais peçonhentos.

Procura-se coletar as plantas com cuidado, pois, em sua maioria, são muito delicadas, encontram-se fortemente enraizadas no substrato e podem danificar-se diante de qualquer movimento mais brusco. Os apetrechos, tais como enxada (Fig. 29), desplantador (Fig. 31), facão (Fig. 33), pá (Fig. 30), tesoura de poda, peneira de malha, etc., são usados de acordo com as necessidades, dependendo do porte e consistência da planta e de seu "habitat". A enxada com gadanho conjugado (Fig. 28) possibilita a coleta de plantas sem danificá-las. A peneira é utilizada para coletar material que se encontra na superfície da água.

No caso de transporte da planta viva, usam-se sacos plásticos ou baldes com um pouco de água. Coloca-se a planta juntamente com um papel contendo o nome do coletor e número de coleta e data escritos a lápis, fechando-se os sacos com barbante ou cordinha.

Costuma-se usar binóculo em excursões para localização de áreas de coleta distantes e máquina fotográfica quando documentação complementar se fizer necessária.

As anotações, em caderneta de campo, devem ser feitas no local.

4.7.2. Preservação

A — Materiais

álcool a 70%
durex
escova de tamanho médio com cerdas duras (Fig. 34)
FAA (ver cap. 6)
frasco de vidro com tampa (vários tamanhos)
isopor
pinça
pincel (Fig. 35)
proveta graduada com bastão de vidro (Fig. 36)
recipiente de plástico (cubas, bacias, etc.)
tesoura comum
tesoura de poda

B — Métodos

As plantas aquáticas devem, de preferência, ser preservadas no local da coleta.

Limpa-se a planta, usando, se necessário, escova (Fig. 34) para tirar o lodo da raiz. Retiram-se as folhas que não estiverem em bom estado, limpando as restantes com pincel (Fig. 35), sempre tomando precauções para não estragar os botões e flores. Para estudo do grão de pólen, colocam-se, de preferência, botões fechados em ácido acético glacial p.a. . Dá-se preferência aos botões fechados, porque estão completos e ainda não foram contaminados. Para estudos taxinômicos é suficiente colocar a planta inteira em vidro contendo solução de álcool a 70%. Quando isto não for possível, preservam-se desta forma somente botões, flores e frutos.

Para estudos morfológicos, costuma-se usar solução de FAA (ver cap. 6). Coloca-se de preferência a planta inteira num vidro ou em vários, dependendo do tamanho da planta e, em seguida, enche-se com solução de FAA até cobrir toda a planta. Entre o vidro e a tampa coloca-se um plástico resistente e amarra-se bem forte o plástico ao vidro com barbante, colocando-se a tampa em seguida.

Todos os frascos devem ser rotulados, com os dados da coleta, mais o nome do líquido preservador, em etiquetas gomadas e cobertas por durex para evitar que borrem, quer por extravasamento do líquido ou por ocasião de limpeza dos frascos. No caso de uma mesma planta ter que ser dividida em partes e colocada em vários vidros, deve-se numerá-los.

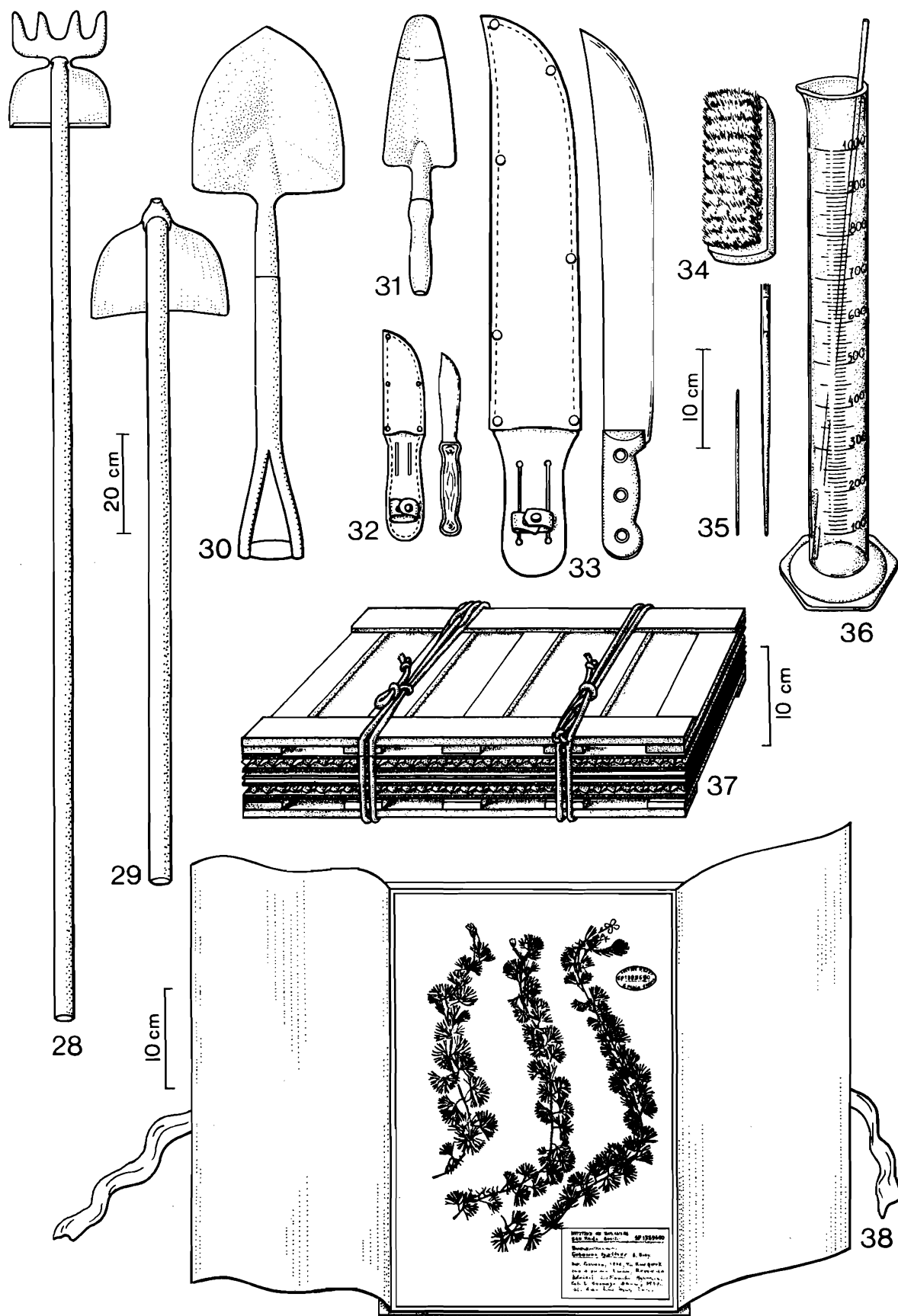



Figura 28. Enxada com gadanho conjugado. Figura 29. Enxada. Figura 30. Pá. Figura 31. Desplantador. Figura 32. Faca com bainha. Figura 33. Facão com bainha. Figura 34. Escova média de cerdas duras. Figura 35. Pincéis. Figura 36. Proveta graduada e bastão de vidro. Figura 37. Prensa. Figura 38. Exsicata.

O estudo da planta viva é o ideal, mas isto, nem sempre é possível. Pode-se, quando a viagem não for muito longa, trazer alguns exemplares vivos, acondicionados em sacos plásticos, contendo um pouco de água. Este método é usado também quando não há possibilidade de colocar-se as plantas em solução preservadora no local da coleta.

Quando a planta está muito suja como é o caso das plantas submersas, costuma-se deixá-la por mais ou menos 24 horas em recipientes de plástico ou similares contendo água limpa. Sua limpeza dependendo da planta, é efetuada com escova ou pincel, e em seguida remove-se a água antes de colocar a planta em frasco contendo solução preservadora.

O isopor é usado para o transporte das soluções preservadoras.

4.7.3. Herborização

A — Materiais

água de torneira
banheira de fotógrafo
bisturi ou lâmina de barbear
cartolina branca — tamanho 28 x 42cm
chapa metálica
durex ou fita crepe de 25mm x 55m
escova média de cerda dura (Fig. 34)
faca com bainha (Fig. 32)
papel celofane
pinça
pincel (Fig. 35)
recipiente de plástico (Ex: cubas, bacias)
rótulo — tamanho 12,5 x 8cm — papel fino
tesoura comum
tesoura de poda

Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Ver 4.1: PADRÃO GERAL DE HERBORIZAÇÃO

Deve-se ter bastante cuidado com as flores das plantas aquáticas que, em geral, são muito delicadas, necessitando tratamento especial. Assim, sua herborização deve ser feita no local da coleta, pois murcham com facilidade. Muitas plantas aquáticas fecham suas flores, por volta de 15:00 horas da tarde, tornando a desabrochar somente no dia seguinte com a luz do sol, razão pela qual não se recomenda coletar nesse período.

Separam-se as partes vegetativas e reprodutivas das plantas com tesoura de poda. No caso de plantas frágeis, a separação deve ser feita com o auxílio de bisturi ou lâmina de barbear. É aconselhável distender as partes das flores com pincel ou pinça, conforme o caso, envolvendo-as em papel celofane, chupão ou papel sulfite de 40kg, fixando-o ao jornal com durex ou fita crepe. Se for necessário, por causa da sua fragilidade, as flores, devidamente numeradas, devem ser preparadas à parte, evitando-se que sequem em demasia na estufa, até esperar que a parte vegetativa correspondente, mais consistente, seque. Depois de prontas, deverão ser colocadas juntamente com o resto do material a que pertencem.

As plantas aquáticas submersas, em geral muito delicadas, devem ser transportadas em sacos plásticos para o laboratório, onde precisam ser colocadas em recipientes com água limpa; necessitam limpeza com pincel ou pinça. Para herborização, coloca-se uma folha de cartolina branca sobre uma chapa de alumínio, num vasilhame raso, como bandeja de fotógrafo, com pouca água e em seguida as plantas são limpas. Depois levanta-se lentamente a chapa metálica, dispondo a planta com pincel ou pinça para que adquira o aspecto natural. Feito isto, vai-se retirando com cuidado a cartolina da água para evitar que a planta saia do lugar. Retoca-se o que for necessário e deixa-se escorrer a água remanescente. Se for o caso, cobre-se ou envolve-se a planta com papel adequado e coloca-se dentro de jornal para secagem. Depois de seca, caso haja necessidade, troca-se a cartolina. O material é então montado na forma usual (Fig. 38) — ver 4.1. PADRÃO GERAL DE HERBORIZAÇÃO.

5
ORGANIZAÇÃO DE HERBÁRIO

Maria Sakane

ORGANIZAÇÃO DE HERBÁRIO

Herbário é uma coleção de plantas mortas, secas e montadas de forma especial, destinadas a servir como documentação para vários fins. O herbário é utilizado nos estudos de identificação de material desconhecido, pela comparação pura e simples com outros espécimes da coleção herborizada; no levantamento da flora de uma determinada área; na reconstituição do clima de uma região; na avaliação da ação devastadora do homem ou da ação deletéria da poluição; na reconstituição do caminho seguido por um botânico coletor, etc. Muito é possível conseguir-se pelo simples manusear de exsicatas de um herbário.

Um herbário é também o centro de treinamento e capacitação de pessoal especializado em taxinomia vegetal. A metodologia proposta no presente trabalho é a adotada no Herbário do Estado "Maria Eneyda P. Kauffmann Fidalgo", do Instituto de Botânica de São Paulo.

5.1. Montagem

A — Materiais

agulha
cartolina branca — fls. 42 x 28cm
cola tipo Cascolar hidrossolúvel
linha branca
rótulo em cartolina branca de 12,5 x 8cm
Ver — INSTRUÇÕES GERAIS

B — Métodos

Na medida das possibilidades, todo material deve ser montado para permitir mais fácil estudo e manuseio. Para tanto, recomenda-se que a planta seja costurada com pontos, com agulha e linha, em pedaços de cartolina branca de boa textura cortados em tamanho padrão de aproximadamente 42 x 28cm, ou colada com cola tipo Cascolar, solúvel em água, sobre a folha de cartolina. A primeira forma permite um manuseio mais seguro do material, pois retirá-lo da cartolina torna-se tarefa relativamente fácil e oferece menor risco de dano para o material do que quando colado. Esta diferença é especialmente significativa com materiais delicados.

Cola-se o rótulo do material em toda sua extensão, de preferência no canto inferior direito da cartolina de montagem. No canto superior esquerdo, diametralmente oposto, deve-se afixar um pequeno envelope para conter as partes eventualmente despencadas do material, tanto caídas durante o processo de secagem na estufa, como daquelas necessariamente retiradas para o estudo do vegetal. Os demais rótulos, principalmente os de anotações dos especialistas, devem ser colados conforme alguma ordem pré-estabelecida e próximos aos rótulos originais.

5.2. Preservação

A — Materiais

armário de aço de 198 x 100 x 50cm
caixa de madeira ou lata especial de 45 x 28 x 30cm
estufa
formalina (= formol à 40%)
naftalina em bola ou cânfora cristalizada
paradiclorobenzeno
saco de pano de algodão cru

B — Métodos

As exsicatas, após serem montadas na cartolina, são guardadas em recipientes secos e fechados, tais como, caixa de madeira, lata especial ou armário de madeira ou de aço especialmente desenhado e construído ou adaptado para tal fim, a fim de evitar umidade e acesso a insetos.

Para a profilaxia dos insetos de modo geral, coloca-se naftalina em bolas ou cânfora cristalizada em contato com os espécimes montados. Sempre que possível, usa-se, preferencialmente, em substituição, mistura de naftalina triturada com paradiclorobenzeno em partes iguais. Para evitar que o material profilatizante entre em contacto direto com as exsicatas de herbário, costuma-se guardá-lo em pequenos sacos costurados de pano de algodão cru alvejado. O contato direto pode provocar a cristalização do material químico sobre as exsicatas e prejudicá-las em maior ou menor extensão.

Mais recentemente, em alguns herbários, as exsicatas recebem apenas o tratamento térmico, isto é, as plantas são colocadas a uma temperatura determinada, 50-80ºC, variável conforme o tipo de material, por cerca de 3-4 horas, eliminando, assim, os insetos e suas larvas, bem como a umidade. Obviamente, o tempo acima é médio, pois material muito delicado necessita um tempo sensivelmente menor de exposição térmica, bem como, plantas suculentas ou mais espessas demandam maior tempo de secagem. Na prática, o tempo de secagem é determinado pelo acompanhamento periódico do material na estufa, o que deve ser providenciado pelo próprio especialista. Somente este é capaz de identificar o melhor tempo de secagem para o seu material, através de exames sucessivos e periódicos dos espécimes na estufa.

Em muitos casos, usa-se pincelar o material a ser secado com uma solução à 10% de formalina (formol a 40%), antes de colocá-lo na estufa.

5.3. Organização

A — Materiais

caixa de papelão em tamanhos diversos
cartolina dobrada para o tamanho de 42 x 28cm, em cores diversas (branca, rosa, marrom, havana, verde, preta, azul, amarela e vermelha)
ficha em cartolina branca de 12,5 x 8cm.
frasco com tampa de plástico
papel Kraft em folhas dobradas para o tamanho de 42 x 28cm

B — Métodos

Embora existam maneiras diversas de organizar um herbário, recomenda-se pelo menos até o nível de ordem a adoção de um sistema de classificação. Para melhor orientação sugerem-se os seguintes sistemas:

ALGAS: Cyanophyceae, Rhodophyceae, Chlorophyceae, Euglenophyceae, Chloromonadophyceae, Charophyceae, Dinophyceae, Xantophyceae, Chrysophyceae, Cryptophyceae, Bacillariophyceae e Phaeophyceae. Sistemas recomendados: SMITH (1950) e para as Chloromonadophyceae, PRESCOTT (1969).
FUNGOS: Plasmodiophoromycetes, Myxomycetes, Acrasiomycetes, Labyrinthulomycetes, Chytridiomycetes, Oomycetes, Trichomycetes, Zygomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes e Deuteromycetes. Sistema recomendado: ALEXOPOULOS (1962).
LÍQUENS: Ascolichenes e Hymenolichenes. Sistema recomendado: HALE (1961).
BRIÓFITAS: Hepaticopsida, Anthocerotopsida e Bryopsida. Sistema recomendado: PARIHAR (1972).
PTERIDÓFITAS: Psilophytinae, Lycopodinae, Psilotinae, Articulatae, Filicinae. Sistema recomendado: VERDOORN (1967).
GIMNOSPERMAS: Cycadae, Coniferae, Chlamydospermae. Sistema recomendado: CRONQUIST (1968).
ANGIOSPERMAS: Sistema recomendado: CRONQUIST (1968).

Sob seus respectivos táxons, famílias, gêneros e espécies são distribuídos por ordem alfabética. A identificação da origem dos espécimes é feita pela cor da sobrecapa na seguinte conformidade: Brasil — branca ou papel Kraft; Canadá e E.U.A. — rosa; do México ao Paraguai — marrom; Chile, Argentina e Uruguai — havana; Europa — verde; África — preta; Ásia — amarela; Oceania — azul.

A sobrecapa de cor vermelha é usada exclusivamente para identificar os espécimes-tipo, independente de sua origem geográfica. Espécimes-tipo são organizados em armários separados, acompanhando o mesmo sistema.

Conforme a necessidade, espécimes podem ainda ser guardados em caixas ou em líquidos preservativos. Para cada exsicata em caixa ou em líquido, deve ser montada uma folha de cartolina, com

rótulos e dados, a ser guardada no lugar devido na coleção geral, contendo a anotação: espécime em caixa ou espécime em vidro.

Rótulos e fichas devem conter: nome da instituição, da cidade, do país; sigla do herbário conforme registrada no Index Herbariorum; nome da família; nome científico da espécie; nome do determinador e data da determinação; procedência, nome e número do coletor e data da coleta; outras observações (ver — INSTRUÇÕES GERAIS).

Em adição, podem ainda ser organizados fichários diversos para garantia de maior facilidade de trabalho, a saber: a. numérico (de acesso); b. de distribuição geográfica; c. de coletor; d. em ordem sistemática.

6

FÓRMULAS E MEIOS DE CULTURA

6.1. Fórmulas

Sob este título, incluem-se líquidos e processos de preservação, assim como, soluções outras com finalidades diversas.

A. Líquidos ou processos preservadores

a. Álcool — Glicerina

Álcool etílico a 96ºG.L.	630ml
Água destilada ou filtrada	270ml
Glicerina	100ml

Preservador usado para flores.

b. Líquido de Hammarlund

Sulfato de cobre em solução saturada	750ml
Formol a 40% (= formalina)	50ml
Água destilada	250ml

Coloca-se a planta neste líquido durante o período de uma semana, e transfere-se depois para uma solução de formalina a 10%. Se o material contiver muito óleo essencial, tanino, resina, latex, etc., submete-se por duas vezes seguidas a 10 minutos numa mistura de: álcool-eter e duas horas em água.

c. Processo de Drummond

Sulfato de cobre em solução aquosa a 5%
Ácido sulfuroso em solução aquosa a 5-6%
Glicerina

Coloca-se a planta na solução de sulfato de cobre por 6-24 horas, dependendo do tempo da fixação, da consistência e do volume do tecido a ser impregnado. Em seguida o material é lavado durante umas duas horas para tirar o excesso de sulfato de cobre, transferindo-se depois as plantas para a solução de ácido sulfuroso. Acrescenta-se a essa solução 50ml de glicerina, no caso de frutos ou tubérculos suculentos.

d. FAA + Sulfato de Cobre

Ácido acético glacial	300ml
Álcool comercial (98ºG.L.)	500ml
Água destilada	300ml
Sulfato de cobre em solução saturada	50ml

Fixador de cor usado especialmente para fungos.

e. FAA

Formol a 40% (= formalina)	5ml
Ácido acético glacial	5ml
Álcool a 50%	90ml

Preservador usado para todos os grupos de plantas, exceto algas.

f. Lactofenol

Fenol cristalizado	20g
Ácido lático	20g
Glicerina	40g
Água destilada	20ml

Usado para o preparo de lâmina de fungos pigmentados.

g. Lactofenol — Azul de algodão

Lactofenol (ver solução b) 100ml
Azul de algodão 500ml

Usado para o preparo de lâminas de fungos não pigmentados.

h. Lugol acético

Iodo 20g
KI 20g
Água destilada 200ml
Ácido acético 20g

Usado para evidenciar a presença de material auciló ide, bem como, para preservar cílios e flagelos.

i. Transeau (6/3/1)

Formol a 40% (= formalina) 100ml
Álcool a 96ºG.L. 300ml
Água destilada 600ml

Preservador para algas e briófitas.

6.2. Meios de cultura

Utilizados para isolamento e crescimento de fungos. O mais usado é o BDA, por isto, minuciosamente descrito a seguir:

a. BDA *(batata — dextrose — ágar)*

Batata 140g
Dextrose 10g
Ágar 20g
Água destilada .... ± 1000ml

Cozinhar a batata em 500ml de água, amassar e filtrar em algodão ou gaze.
Fundir o ágar em 500ml de água, em banho-maria, mexendo sempre.
Juntar a água de batata filtrada com ágar fundido e adicionar a dextrose dissolvida previamente em uns poucos ml de água. Completar até 1000ml com água.
Distribuir o meio bem dissolvido em frascos Erlenmeyers de mais ou menos 250ml, com o cuidado de que o conteúdo não ultrapasse a metade da capacidade total do frasco. Arrolhar o frasco com algodão hidrófobo, de preferência, recobrir a rolha com um pedaço de papel de embrulho, amarrar o papel sobre a boca do frasco, com barbante ou com elástico forte, e levar à esterilização (autoclavagem).
Autoclavar a mais ou menos 1,5 atmosfera por 30 minutos, usando qualquer tipo de autoclave, ou mesmo uma boa panela de pressão. Neste caso, utilizar, de preferência, uma tela de amianto ou qualquer cobertura no fundo da panela de pressão, para evitar que os frascos fiquem em contato direto com o fundo da panela, colocar, então, os frascos contendo os meios e adicionar água até atingir 4-7cm (3-4 dedos) da altura dos frascos.
Fechar a panela de pressão. Usar a panela como recomendado para cozimento normal.
Quando o vapor começar a agitar o pino regulador da panela, marcar 30 minutos.
Passado o tempo, deixar a panela esfriar normalmente por alguns minutos, e então, dar saída da pressão, pelo levantamento

da válvula, lentamente. O meio poderá caramelizar-se se o tempo for muito longo ou o fogo for muito forte.
Retirados os frascos da panela de pressão, ou da autoclave, esperar que a temperatura abaixe. Quando o calor do frasco puder ser tolerado pela mão, transferir o meio para placas-de-petri previamente esterilizadas (por aquecimento no forno do fogão, durante 30-45 minutos ou em estufa ou em autoclave a seco), flambando a boca do frasco Erlenmeyer na chama de gás ou lâmpada de álcool.
Deixar que o meio se solidifique. Formando-se água de condensação na tampa das placas, vira-se as mesmas para que o excesso de umidade desapareça. O meio, pronto para uso, deve ser preferencialmente conservado em geladeira ou lugar fresco, protegido do sol direto e da exposição à poeira e levado novamente à temperatura ambiente no momento de usar.

b. Czapek

Água destilada	1000 ml
Nitrato de sódio ($NaNO_3$)	3,0 g
Fosfato de potássio bibásico (K_2HPO_4)	1,0 g
Sulfato de magnésio ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0,5 g
Cloreto de potássio (KCl)	0,5 g
Sulfato ferroso ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)	0,01g
Sacarose	30 g
Ágar	15 g

Fundir o ágar, juntar os demais componentes do meio exceto a sacarose, autoclavar a 1,5 atmosfera e 130ºC por 20 minutos e adicionar então a sacarose.
Para isolamento de fungos de solo recomenda-se a adição de 0,5% de extrato de levedura e acidificação do meio com ácido fosfórico até pH 4 (WARCUP, 1950).

Czapek modificado

Adicionar ao meio Czapek: 5g de extrato de levedura, 0,5g de sulfato de estreptomicina e 0,05g de rosa-de-bengala para cada 1.000ml de meio de cultura.

c. Extrato de malte a 2%

Extrato de malte (comercial)	20g
Ágar	20g
Água destilada	1000ml

Fundir o ágar, juntar os demais componentes e autoclavar conforme indicado para BDA.

d. Fubá-de-milho

Fubá	20g
Ágar	20g
Água destilada	1000ml
Dextrose	20g

Cozinhar o fubá a mais ou menos 60ºC por uma hora em 500ml de água destilada e filtrar em gaze. Fundir o ágar em 500ml de água destilada em banho-maria. Juntar as duas preparações e mais 20g de dextrose. Completar os 1000ml com água destilada. Autoclavar conforme indicado para BDA.

e. Glicose-glutamato

EDTA	200 mg
K_2HPO_4	87 mg
KH_2PO_4	68 mg
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	160 mg
$CaCl_2$	66 mg

$MnCl_2 \cdot 4H_2O$ .... 75 mg
$ZnCl_2$ .... 40 mg
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 1,3mg
DL-metionina .... 50 mg
Glutamato de sódio (mono) .... 500 mg
D-glicose .... 3 mg

Dissolver os ingredientes em 500ml de água destilada, chegar o volume final a 1 l, ajustar para pH 6,5 com solução de KOH. Adicionar 1,5g ágar, para meio de cultura, ou 15g para meio de isolamento. Autoclavar a 120ºC por 15 minutos.

f. **GY-5**

KH_2PO_4 .... 1,4g
Na_2HPO_4 .... 0,6g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,1g
Extrato de levedura 1,0g
Glicose 3,0g
Bromarosol purpúreo aquoso a 0,04% .... 5 ml
Água destilada .... 1000 ml

Juntar todos os ingredientes e autoclavar conforme indicado para BDA.

g. **MHU**

Extrato de malte 3,0g
Peptona 1,0g
Glicose 1,0g
Penicilina 0,3g
Sulfato de estreptomicina 0,3g
Ágar 10,5g
Água destilada .... 1000 ml

Fundir o ágar, juntar todos os ingredientes exceto a penicilina e sulfato de estreptomicina, autoclavar e adicionar então os antibióticos.

h. **MP-5**

Maltose 4g
Peptona 1g
Ágar 15-20g
Água destilada 1000ml

Fundir o ágar, juntar os demais ingredientes e autoclavar conforme indicado para o BDA. Dependendo da pureza do ágar, a quantidade para o meio ficar sólido varia entre 15 e 20g.

i. **Tubaki**

Glicose 1,0g
Extrato de levedura 0,1g
Ágar .... 15 g
Água do mar esterilizada .... 1000 ml

Fundir o meio, juntar os demais ingredientes e autoclavar conforme indicado para o BDA. Se necessário, para evitar crescimento de bactérias, adicionar, após autoclavagem do meio:

Estreptomicina 0,5g
Penicilina 0,2g

6.3. Outras técnicas (preparo de iscas)

a. Descoloração de folhas

Coletar folhas com poucas camadas de células (ex.: gramíneas). Colocá-las em solução 10%

de hipoclorito de sódio (água sanitária de qualquer marca comercial) até a descoloração completa. Lavar em água corrente até retirar qualquer indício do hipoclorito. Secá-las ao ar, cortá-las em quadrados de cerca de 1cm de lado.

b. Epiderme de cebola

Retirar a epiderme interna da cebola. Lavá-la cuidadosamente. Colocá-la sobre papel e secá-la ao ar. Cortá-la em pedaços e utilizá-la.

c. Exo-esqueleto de camarões, siris e lagostas

Selecionar as partes mais transparentes, lavá-las e colocá-las em solução de HCl a 1% para descalcificação durante uma semana, trocando diariamente a solução. Retirar o material e lavar em água corrente várias vezes, mergulhando em seguida em solução de KOH a 2% durante 10 dias para retirar todo o material protéico e outros materiais orgânicos, com exceção da quitina (KARLING, 1945). As cascas deverão estar amolecidas. Retirar e ferver durante três dias em álcool etílico (em banho-maria) para retirada de pigmentos. Lavar e secar. O material deverá ser quase transparente e flexível. Guardar para uso oportuno. Para iscagem cortar em tiras finas.

d. Papel celofane, ecdises de cobra, asas de insetos

Mergulhar antes em álcool 70%. Secar ao ar.

e. Sementes de cânhamo

Devem, antes de tudo, ser fervidas em água destilada, por cerca de um minuto. Secar à temperatura ambiente e armazená-las em frascos bem fechados. Cortá-las transversalmente ao meio, antes do uso.

LITERATURA CITADA

Alexopoulos, C.J. 1962. Introductory Mycology. 2nd. ed. New York & London: John Wiley & Sons, Inc. 613p.

Bimont, G.O.T. 1945. Manuel Pratique du Botaniste Herborisant. Paris: Ed. N. Boubée & Cie. 88p.

Cronquist, A. 1968. The Evolution and Classification of Flowering Plants. 2nd. ed. New York: Allen Press. 396p.

Davies, R.R. 1971. Air sampling for fungi, pollens and bacteria. In Booth, C. Methods in Microbiology. London: Academic Press. vol. 4, p. 367-404.

Emerson, R. 1958. Mycological Organization. Mycologia 50:589-621.

Fassett, N.C. 1957. A Manual of Aquatic Plants. 2nd. ed. Madison: University of Wisconsin. 405p.

Hale, M. 1961. Lichen Handbook. A Guide to the lichens of Eastern North America. Washington, DC: Smithonian Institute. 178p.

Harris, R. 1977. História Natural. Roteiro para Pesquisa e Organização de coleções. Sér. Prisma 39. São Paulo: Ed. Melhoramentos. 157p.

Hoehne, F.C. 1948. Plantas Aquáticas. São Paulo: Instituto de Botânica. 168p.

Johnston, I.M. 1939. The Preparation of Botanical Specimens for the Herbaria. Jamaica Plain, Mass: Arnold Arboretum. 33p.

Karling, J.S. 1945. Brazilian chytrids. VI. Rhopalophyctis and Chytriomyces, two new chitinophyllic operculate genera. American Journal of Botany 30:362-369.

Kuhlmann, M. 1947. Como Herborizar Material Arbóreo. São Paulo: Instituto de Botânica. 30p., 10fig.

Maerz, A. & PAUL, M.R. 1950. A dictionary of color. 2nd. ed. New York: McGraw-Hill Book. Co., Inc. vii+208p.

Onions, A.H.S. 1971. Preservation on fugi. In Booth, C. Methods in Microbiology. London: Academic Press. Vol. 4, p. 113-151.

Parihar, N.S. 1972. An Introduction to Embryophyta (Bryophyta). Allahabad: Central Book Depot. Vol. 1, 377p.

Prescott, G.W. 1969. The Algae: a review. London: Thomas Nelson & Sons Ltd. 436p.

Sculthorpe, C.D. 1967. The Biology of Aquatic Vascular Plants. London: Edward Arnold Publ. Ltd. 610p.

Smith, G.M. 1950. The Freshwater Algae of United States. 2nd. ed. New York: McGraw-Hill Book. Co., Inc. 719p.

Swingle, C.F. 1930. Oxyquinolone sulphate as a preservative for plant tissues. Botanical Gazette 90: 333-334.

The British Colour Council & The Royal Horticultural Society. 1938. Horticultural Colour Chart. Bandury: Henry Stone & Son Ltd., 2 vols.

Toledo, J.F. 1942. Guia do Herborizador e Preparador de Fanerógamas. São Paulo: Edigraf. 43p.

Verdoorn, F. 1967. Manual of Pteridology. Amsterdan: A. Asher & Co. 640p.

Vollenweider, R.A. 1971. A manual on methods for measuring primary production in aquatic environments. 2nd ed. London: Blackwell Scientific Publications. 213p. (IBP Handbook nº 12).

Warcup, J.H. 1950. The soil plate method for isolation of fungi from the soil. Nature 116: 117-118.

LITERATURA RECOMENDADA

Ainsworth, G.C. & Sussman, A.S. (ed.) 1965-1968. The Fungi – An Advance Treatise. New York: Academic Press Inc. Vol.I-III.

Ainsworth, G.C. & Sparrow, F.K. & Sussman, A.S. (ed.) 1973. The Fungi – An Advance Treatise. New York: Academic Press Inc. Vol.IVa e IVb.

Fosberg, F.R. & Sachet, M. 1965. Manual for Tropical Herbaria. Regnum Vegetabile 39. Utrecht: IAPT. 132p.

Gleason, H.A. & Smith, A.C. 1930. Methods of preserving and arranging herbarium specimens. Journal of the New York botanical Garden 31(361): 112-125.

Hawksworth, D.L. 1974. Mycologist's Handbook. Kew: Commonwealth Mycological Institute. 231p.

Koch, W.J. 1972. Fungi in the Laboratory. A manual and text. 2nd. University of North Carolina Student Stores, Chapel Hill. 291p.

Lawrence, G.H.M. 1951. Taxonomia das Plantas Vasculares. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, Vol.1,298p.

Ogden, E.C. 1945. Display pocket for cryptogams. Bryologist 48: 194-197.

Radford, A.E., Dickson, W.C., Massey, J.R. & Bell, C.R. 1974. Vascular Plant Systematics. New York, Evanston, San Francisco & London: Harper & Row, Publ. 891p.

Schuster, R.M. 1953. A manual of the liverworts of Minnesota and adjacent regions. American Midland Naturalist 49(2): 258-684.

Stevens, R.B. 1974. Mycology Guidebook. Seattle & London: University of Washington Press. 703p.